

UNIVERSITE HASSAN II

FACULTE DE MEDECINE ET DE

PHARMACIE DE CASABLANCA

19, Rue Tarik Bnou Ziad

Laboratoire d'Histologie

COURS DE BIOLOGIE

1ère ANNEE

T. ABOUSSAOUIRA

SOMMAIRE

AVANT - PROPOS	18
CHAPITRE 1 METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE	
METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE	20
OBJECTIFS	20
I. ETUDE MORPHOLOGIQUE	23
A. MICROSCOPIE PHOTONIQUE OU OPTIQUE (MO)	23
1) MICROSCOPE PHOTONIQUE	23
2°) MICROSCOPES PHOTONIQUES SPECIAUX	26
B. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE	27
2. MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB)	29
II) ETUDE BIOCHIMIQUE	30
A. FRACTIONNEMENT CELLULAIRE PAR CENTRIFUGATION	30
1. DISSOCIATION DES CELLULES	30
2. ECLATEMENT CELLULAIRE OU HOMOGENEISATION	30
3. FRACTIONNEMENT OU SEPARATION DES ORGANITES CELLULAIRES	31

B. CHROMATOGRAPHIE ET ELECTROPHORESE	32
III. ETUDE DU FONCTIONNEMENT CELLULAIRE.....	32
A. CULTURE CELLULAIRE.....	32
TECHNIQUE	32
B -MARQUAGE CELLULAIRE	35
B1. MARQUAGE CELLULAIRE PAR LES ISOTOPES RADIOACTIFS (IR) 35	
B2. MARQUAGE CELLULAIRE PAR LES ANTICORPS (AC)	37
CHAPITRE 2 MEMBRANE PLASMIQUE.....	39
OBJECTIFS	39
I. DEFINITION ET GENERALITES.....	42
II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET ORGANISATION MOLECULAIRE --	42
A - COMPOSITION BIOCHIMIQUE	42
B. ORGANISATION MOLECULAIRE.....	44
III. ROLES PHYSIOLOGIQUES DE LA MEMBRANE PLASMIQUE.....	46
A - ECHANGES DE SUBSTANCES.....	46
1) ECHANGES PAR PERMEABILITE.....	46
1.2) PERMEABILITE PASSIVE.....	46
1.3) PERMEABILITE ACTIVE	48
2) ECHANGES CYTOTIQUES	50

2.1. ENDOCYTOSE	50
2.2. EXOCYTOSE	53
3) EFFETS PHARMACOLOGIQUES SUR LES ECHANGES MEMBRANAIRES	53
B. COMMUNICATION CELLULAIRE	54
1) TRANSMISSION CELLULAIRE	54
2) RECEPTEURS DE SURFACE	56
3) RECONNAISSANCE CELLULAIRE	57
4) MALADIES DUES A L'ALTERATION DES RECEPTEURS	58
C) ADHERENCE CELLULAIRE	59
1) MOLECULES D'ADHESION CAM	59
2) MOLECULES D'ADHESION SAM	60
IV. ADAPTATIONS MORPHOLOGIQUES DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	61
1 - AUGMENTATION DE LA SURFACE D'ABSORPTION	61
2 - MOUVEMENTS CELLULAIRES	61
3 - COHESION ENTRE CELLULES VOISINES	62
V. RENOUVELLEMENT DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	64
CHAPITRE 3 HYALOPLASME CYTOSQUELETTE ET RIBOSOMES	65

OBJECTIFS	65
A. HYALOPLASME	66
I. DEFINITION ET GENERALITES	66
II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	66
III. PROPRIETES	67
IV. ACTIVITES PHYSIOLOGIQUES	67
1. RESERVE DE SUBSTANCES	67
2. METABOLISME CELLULAIRE	68
3. PRODUCTION D'ENERGIE	68
4. MODIFICATIONS DES PROTEINES	68
5. ADRESSAGE DES PROTEINES	68
B. CYTOSQUELETTE	69
I. DEFINITION ET GENERALITES	69
II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET ACTIVITE	69
1) MICROFILAMENTS D'ACTINE	70
2) FILAMENTS INTERMEDIAIRES (FI)	71
3) MICROTUBULES (MT)	72
C. RIBOSOMES	76
I. DEFINITION	76

II. LOCALISATION	76
III. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	76
IV. ROLES PHYSIOLOGIQUES	77
V. BIOGENESE	77
CHAPITRE 4 LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE	78
OBJECTIFS	78
LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE (SE)	79
I. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE	80
A. DEFINITION ET GENERALITES	80
B. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	80
C. ROLES PHYSIOLOGIQUES	81
D.BIOGENESE	84
II. APPAREIL DE GOLGI (1898)	84
A. DEFINITION ET GENERALITES	84
B. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	85
C. ROLES PHYSIOLOGIQUES	85
3) RECYCLAGE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	87
D) BIOGENESE	87
III. LYSOSOMES	88

A . DEFINITION	88
B. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	88
C . ROLES PHYSIOLOGIQUES	88
D) AFFECTIONS LYSOSOMIALES	90
E) EFFETS PHARMACOLOGIQUES SUR LES LYSOSOMES	92
F) BIOGENESE	92
CHAPITRE 5 MITOCHONDRIES ET PEROXYSOMES	94
OBJECTIFS	94
A) MITOCHONDRIES	95
I) DEFINITION ET GENERALITES	95
II) COMPOSITION BIOCHIMIQUE	95
III) ROLES PHYSIOLOGIQUES	97
IV) BIOGENESE	99
B) PEROXYSOMES	100
I. DEFINITION ET GENERALITES	100
II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	100
III. ROLES PHYSIOLOGIQUES	100
IV. BIOGENESE	101

CHAPITRE 6	NOYAU INTERPHASIQUE ET CHROMOSOMES	
		102
OBJECTIFS		102
A. NOYAU INTERPHASIQUE		104
I. DEFINITION ET CARACTERES GENERAUX		104
II. CONSTITUANTS DU NOYAU		105
2. NUCLEOLE		107
3. NUCLEOPLASME		107
4. CHROMATINE		108
B. CHROMOSOMES		108
I. DEFINITION		108
II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE		108
III. ORGANISATION MOLECULAIRE		109
IV. MORPHOLOGIE ET NOMBRE		109
V. ROLES DES CHROMOSOMES		110
1. TRANSMISSION DE L'INFORMATION GENETIQUE		110
MECANISME DE L'APOPTOSE		114
2. EXPRESSION DES GENES		116
VI. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES		116

CHAPITRE 7	BIOSYNTHESE DES PROTEINES	----- 118
I) GENERALITES		----- 118
II) TERMINOLOGIE		----- 118
III) DEROULEMENT DE LA BIOSYNTHESE DES PROTEINES		----- 119
IV) LES ANTIBIOTIQUES		----- 121
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		----- 122

CONTENU DU COURS

AVANT - PROPOS

CHAPITRE 1 : METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE OBJECTIFS

I. ETUDE MORPHOLOGIQUE

A. MICROSCOPIE PHOTONIQUE

1. MICROSCOPE PHOTONIQUE

**Observation vitale – Frottis - Empreinte – Coupe histologique – fixation
– inclusion – microtomie – réhydratation - coloration - Montage des
coupes**

2. MICROSCOPES PHOTONIQUES SPECIAUX

**Microscope à fluorescence – Microscope à contraste de phase –
Microscope à interférence**

B. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1. MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION

Coupe ultramince – Coloration négative - cryodécapage

2. MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

II. ETUDE BIOCHIMIQUE

A. FRACTIONNEMENT CELLULAIRE

1. DISSOCIATION CELLULAIRE

2. ECLATEMENT CELLULAIRE

3. SEPARATION DES ORGANITES

Ultracentrifugation différentielle

Ultracentrifugation en gradient de densité

B. CHROMATOGRAPHIE ET ELECTROPHORESE

C. SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION

III. ETUDE DE FONCTIONNEMENT

A. CULTURE CELLULAIRE

**Technique – Milieux de culture – Récipients de culture – Conditions de culture
– Comportement des cellules en culture – Applications de la culture cellulaire**

B. MARQUAGE CELLULAIRE

B1. MARQUAGE PAR LES ISOTOPES RADIOACTIFS

Détection – compteur Geiger – scintigraphe - autohistoradiographie

B2. MARQUAGE PAR LES ANTICORPS

Technique d'immunofluorescence

Technique d'immuno enzymologie

Fabrication des anticorps polyclonaux

Fabrication des anticorps monoclonaux

CHAPITRE 2 : MEMBRANE PLASMIQUE OBJECTIFS

I. DEFINITION ET GENERALITES

II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET ORGANISATION MOLECULAIRE

A. COMPOSITION BIOCHIMIQUE

Lipides - Protéines - Glucides

B. ORGANISATION MOLECULAIRE

Coupes ultraminces – Cryodécapage – Asymétrie – Fluidité

III. ROLES PHYSIOLOGIQUES

A. ECHANGES DE SUBSTANCES

Echanges par perméabilité - perméabilité passive - diffusion simple – diffusion facilitée – perméabilité active - ATPase Na^+/K^+ - pompes multirésistantes aux drogues.

Echanges cytotiques - endocytose – phagocytose – pinocytose – endocytose par des récepteurs – potocytose – exocytose

Effets pharmacologiques sur les échanges membranaires

B. COMMUNICATION CELLULAIRE

Transmission cellulaire - transmission neuronale – transmission par les médiateurs chimiques locaux – transmission par les molécules de signalisation dépendant du contact – transmission hormonale

Récepteurs de surface - Récepteur couplé à un canal ionique - Récepteur couplé à une enzyme - Récepteur couplé à une protéine G

Reconnaissance cellulaire - Antigènes tissulaires – Antigènes d'histocompatibilité – Antigènes du système ABH- Maladies dues à l'altération des récepteurs.

C. ADHERENCE CELLULAIRE

Molécules d'adhésion CAM - Molécules d'adhésion SAM

IV . ADAPTATIONS MORPHOLOGIQUES DE LA MEMBRANE

Augmentation des la surface d'absorption : Micovillosités – stéréocils invaginations membranaires

Mouvements cellulaires : Cil vibratile - flagelle

Cohésion cellulaire : interdigitations – Jonctions cellulaires - Jonction occludens – Jonction adherens – desmosome – Jonction Gap

V. Renouvellement

CHAPITRE 3 : HYALOPLASME - CYTOSQUELETTE - RIBOSOMES OBJECTIFS

A. HYALOPLASME

I. DEFINITION ET GENERALITES

II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE

III. PROPRIETES

IV. ACTIVITES PHYSIOLOGIQUES

Réserve de substances – métabolisme cellulaire – production d'énergie –

Modification des protéines – Adressage des protéines

B. CYTOSQUELETTE

I. DEFINITION ET GENERALITES

II. COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET ACTIVITE

- 1) microfilaments d'actine : organisation moléculaire – rôles physiologiques – effets pharmacologiques**
- 2) filaments intermédiaires : Définition – structure et classification - rôles physiologiques**
- 3) Microtubules : Définition - organisation moléculaire – structures contenant les microtubules – centriole – centrosome – cinétosome – cil vibratil et flagelle - rôles physiologiques - effets pharmacologiques**

C. RIBOSOMES

- I. Définition**
- II. Localisation**
- III. Composition biochimique**
- IV. Rôles physiologiques**
- V. Biogenèse.**

CHAPITRE 4 : SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

OBJECTIFS

LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

- I. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE**
 - A. Définition et généralités**
 - B. Composition biochimique**
 - C. Rôles physiologiques**

1) Synthèse de lipides et d'hormones stéroïdes : synthèse de phospholipides - synthèse d'hormones stéroïdes.

2) Adressage des protéines

4) Maturation des protéines

5) Transport des molécules

6) Détoxification

D. Biogenèse

II. Appareil de Golgi

A. Définition et généralités

B. Composition biochimique

1) Membranes

2) Cavités des saccules

3) Vésicules

C. Rôles physiologiques

1) Maturation des molécules : O-glycosylation des protéines – Phosphorylation de glycoprotéines – Sulfatation de glycoprotéines

2) Transport de molécules

3) Recyclage de la membrane plasmique

D. Biogenèse

III. Lysosomes

A. Définition et généralités : Lysosome I – Lysosome II

B. Composition biochimique

1) Membranes

2) Cavités

C. Rôles physiologiques

1) Autophagie : mécanisme – intérêt

2) Hétérophagie : mécanisme – intérêt

D. Affections lysosomiales

- 1) Accumulation des corps résiduels**
- 2) Maladies métaboliques**
- 3) Absence de perméases lysosomales**
- 4) Blockage de l'ATPase – H^+ des lysosomes**
- 5) Maladies pulmonaires des mineurs de fond**
- 6) Goutte**

E. Effets pharmacologiques sur les lysosomes

F. Biogenèse

CHAPITRE 5 : MITOCHONDRIES ET PEROXYSOMES

OBJECTIFS

A. MITOCHONDRIES

I. Définition et généralités

II. Composition biochimique

Membranes – ATPosome ou PSE – Espace intermembranaire – Matrice – Génome mitochondrial

III. Rôles physiologiques :

- 1. respiration cellulaire**
- 2. Synthèse d'hormones stéroïdes**
- 3. synthèse et dégradation des acides gras**
- 4. accumulation de substances**
- 5. biosynthèse des protéines mitochondriales**

IV. Biogenèse

B. PEROXYSOMES

I. Définition et généralités

II. Composition biochimique

III. Rôles physiologiques :

1. Oxydation de métabolites

2. Dégradation

3. Dégradation des acides gras à longue chaîne

IV. Biogenèse

CHAPITRE 6 : NOYAU ET CHROMOSOMES

OBJECTIFS

A. NOYAU INTERPHASIQUE

I. Définition et généralités : taille – forme – nombre – position – colorations

II. Constituants

1. Enveloppe nucléaire : membranes - lamina nucléaire – espace périnucléaire - pores nucléaires - biogenèse

2. Nucléole : définition – rôle

3. Nucléoplasme

4. Chromatine : Euchromatine – Hétérochromatine – Chromatine sexuelle

B. CHROMOSOMES

I. Définition

II. Composition biochimique

III. Organisation moléculaire

IV. Morphologie et nombre : morphologie – nombre de chromosomes

V. Rôles des chromosomes

1. transmission de l'information générique

**Cycle cellulaire – Duplication de l'ADN - Mitose – Indice mitotique –
Régulation de la mitose – Apoptose - Méiose**

2. Expression des gènes

VI. Anomalies chromosomiques

CHAPITRE 7 : BIOSYNTHESE DES PROTEINES

I) Généralités

II) Terminologie

III) Déroulement de la biosynthèse des protéines

- Transcription : Etape d'initiation – Etape de synthèse – Etape de maturation

- Traduction : Etape d'initiation – Etape d'élongation – Etape de terminaison

IV) Les antibiotiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AVANT - PROPOS

Ce cours de Biologie est destiné aux étudiants de première année de médecine générale et de médecine dentaire et porte essentiellement sur la Biologie de la cellule. Il est dispensé au premier trimestre de l'année universitaire sous forme de cours magistral et de travaux dirigés (TD). Ce polycopié donne seulement un aperçu des notions du cours de Biologie et ne doit pas dispenser l'étudiant de la prise de notes pendant le cours magistral.

Dans le souci de diversifier les méthodes pédagogiques, d'autres moyens d'apprentissage concernant la Biologie sont mis à la disposition de l'étudiant, à savoir un polycopié des schémas illustrant quelques mécanismes et structures cellulaires, des films scientifiques sur vidéocassettes, un module rassemblant l'iconographie des structures cellulaires (cf. médiathèque de la Faculté), et enfin des livres disponibles pour la plupart à la bibliothèque de la Faculté (cf. références à la fin de ce polycopié). Il est vivement conseillé à l'étudiant de varier les moyens d'apprentissage et d'utiliser les différents outils pédagogiques qui lui sont offerts pour apprendre mieux et plus facilement cette matière.

Les travaux dirigés sont des illustrations du cours théorique par des supports visuels, en l'occurrence des diapositives comportant les schémas des mécanismes cellulaires et des microphotographies illustrant la morphologie des structures cellulaires au microscope optique et électronique. Les travaux dirigés de Biologie sont répartis en trois ou quatre séances :

- 1^{er} séance : Méthodes d'étude de la cellule + Visite laboratoire d'Histologie
- 2^e séance : Membrane plasmique - Hyaloplasme - Cytosquelette-Ribosomes
- 3^e séance : Organites cellulaires - Noyau et chromosomes

La méthode active sera adoptée lors des séances de TD et l'étudiant sera sollicité pour participer au commentaire des diapositives.

Avant son arrivée au cours magistral de Biologie, il est souhaitable que l'étudiant ait lu à l'avance le chapitre qui sera traité pendant la séance. De la même manière, il est recommandé à l'étudiant de réviser auparavant les chapitres concernés par chaque séance de TD et d'amener ses notes personnelles en salle de travaux dirigés.

L'examen portera sur la **totalité** des chapitres traités sans exception et a pour but de vérifier si les objectifs, présentés en début de chaque chapitre, sont bien atteints par l'étudiant.

Chapitre 1 METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE

Objectifs

- Expliquer l'intérêt du microscope photonique (MO) en clinique
- Décrire la partie optique du microscope photonique
- Définir le pouvoir séparateur du microscope photonique
- Citer les préparations biologiques observables au MO
- Décrire les étapes de préparation du frottis, empreinte, observation vitale, coupe histologique et coloration PAS
- Définir les termes suivants : fixateur, paraffine, microtome, colorant
- Expliquer la différence entre coloration topographique, coloration cytochimique et coloration spéciale
- Citer des exemples de MO spéciaux
- Expliquer l'intérêt des MO spéciaux en médecine
- Expliquer l'intérêt du microscope électronique en Biologie
- Décrire le microscope électronique à transmission (MET)
- Comparer les étapes de préparation d'une coupe histologique pour le MET avec celles du MO
- Expliquer le principe du contrastage pour le MET
- Expliquer le principe de formation de l'image par le MET
- Définir le terme "réplique"
- Expliquer l'intérêt du cryodécapage et des répliques en Biologie
- Décrire chacune des étapes du cryodécapage

- Décrire la technique de coloration négative
- Expliquer l'intérêt de la coloration négative en Biologie
- Décrire le microscope électronique à balayage (MEB)
- Expliquer l'intérêt du MEB en Biologie
- Expliquer la technique de préparation des échantillons pour le MEB
- Expliquer le but du fractionnement cellulaire en Biologie
- Expliquer chacune des étapes du fractionnement cellulaire
- Citer les différentes possibilités de dissociation cellulaire
- Citer les différentes possibilités d'éclatement cellulaire
- Expliquer le but de la centrifugation
- Définir l'ultracentrifugation
- Expliquer l'ultracentrifugation différentielle
- Expliquer la technique de centrifugation sur gradient de densité
- Citer l'ordre de sédimentation des organites cellulaires
- Définir les termes suivants: cytosol, microsomes, coefficient de sédimentation
- Expliquer la technique de culture cellulaire
- Citer la composition biochimique d'un milieu de culture cellulaire
- Définir le facteur de croissance
- Enumérer les récipients de culture cellulaire
- Décrire les conditions appropriées pour faire une culture cellulaire
- Expliquer la numération cellulaire
- Décrire le comportement des cellules normales et cancéreuses en culture
- Citer des noms de cellules immortelles en culture
- Définir l'inhibition de contact
- Citer des applications de la culture cellulaire en médecine
- Définir et expliquer la technique du caryotype
- Décrire la technique des hybridomes et citer une application

- Définir les termes suivants : hétérocaryon, hybridome et clone
- Expliquer l'intérêt du marquage cellulaire en médecine
- Expliquer l'utilité du marquage par les radio-isotopes en médecine
- Citer des isotopes radioactifs utilisés pour le marquage cellulaire
- Citer des appareils ou techniques de détection des radio - isotopes
- Expliquer le principe de l'autoradiographie ou autohistoradiographie
- Expliquer l'utilité du marquage cellulaire par les anticorps en médecine
- Expliquer la technique d'immunofluorescence
- Définir les fluorochromes en donnant des exemples
- Expliquer la technique d'immuno-enzymologie
- Définir les chromogènes en donnant des exemples
- Expliquer la technique de fabrication d'un anticorps monoclonal.

I. ETUDE MORPHOLOGIQUE

A. Microscopie photonique ou optique (MO)

Le microscope optique est utilisé en médecine pour analyser des biopsies et des frottis.

La **biopsie** est le prélèvement d'un fragment tissulaire effectué sur le malade et permettant de vérifier un diagnostic donné après analyse au microscope.

Les biopsies nécessitent un long traitement avant leur observation au microscope.

Les frottis qui peuvent être analysés au MO sont :

- Frottis sanguins ou de moelle osseuse pour le diagnostic de nombreuses maladies (anémie, leucémie, etc.)
- Frottis vaginaux : pour le dépistage de cancers, d'infections, etc.

1) Microscope photonique

a. Optique de base

cf. TD et photocopié des schémas

b. Préparations biologiques

Les cellules ou tissus peuvent être préparés sous forme d'observation vitale, frottis, empreinte, ou de coupe histologique.

b1. Observation vitale

Des cellules vivantes sont montées entre lame et lamelle dans un liquide de composition identique ou proche de celui dans lequel elles vivent habituellement ; ex. : liquide physiologique, solution de saccharose à 7 ou 8%, milieu aqueux, etc.

Les structures cellulaires sont transparentes au MO d'où la nécessité d'utiliser des colorants vitaux qui sont électifs pour certains constituants ; ex :

- rouge neutre ou bleu de Crésyl : vacuoles
- vert Janus ou violet de méthyle : mitochondries
- violet Dahlia : noyau

b2. Frottis

Utilisé pour des cellules libres, en suspension ; ex. : cellules sanguines, moelle osseuse, etc.

Technique

- Etalement d'une goutte de sang sur une lame en verre
- Fixation par dessiccation (agitation lame)
- Coloration panoptique (MGG)

(May Grünwald 3 min, eau tamponnée (pH 7) 1 min, Giemsa 10 min, lavage eau courante)

- Séchage et observation au MO.

b3. Empreinte

Consiste à appliquer la section d'un fragment d'organe sur une lame en verre puis à faire une coloration panoptique (cf. frottis). Elle est utilisée pour des cellules facilement dissociables ; ex. : rate, thymus, ganglions.

b4. Coupe histologique

Consiste à obtenir une coupe observable au microscope à partir d'un fragment tissulaire, biopsie ou autre. Sa préparation passe par plusieurs étapes dont les plus importantes sont :

* **Fixation** : conserve les tissus dans un état aussi voisin que possible du vivant, consolide les tissus et facilite la pénétration des colorants. Elle doit être rapide pour éviter la lyse des cellules.

Les fixateurs sont des composés qui font précipiter ou coaguler les macromolécules ; ex. : alcool éthylique, acide acétique, acide picrique, mélange de Bouin, mélange de Carnoy, etc.

L'azote liquide (-196°C) et la neige carbonique (-60°C) sont aussi utilisés comme fixateurs et durcisseurs des échantillons.

* **Inclusion** : consiste à durcir les tissus fixés en remplaçant l'eau intracellulaire par une substance solide ; ex. : paraffine (fusion à 56°C) ; ce qui facilite l'étape suivante de coupe.

La paraffine est un hydrocarbure non miscible à l'eau, l'inclusion est de ce fait précédée d'une déshydratation dans des alcools à titre croissant suivi de divers bains de toluène.

* **Microtomie** : fait intervenir un microtome (cryostat ou cryomicrotome pour les tissus congelés) équipé d'un rasoir en acier. Les coupes doivent être très fines (3 à 5 μ m) afin que la lumière (photons) du microscope puisse les traverser. Des coupes congelées sont aussi utilisées en extemporannée ou en immunohistochimie (cf. plus loin).

* **Étalement et collage** : les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames en verre à l'aide de l'eau gélatineuse ou albumineuse chauffée sur une platine chauffante.

* **Réhydratation** : précédée par un déparaffinage des coupes dans un solvant de la paraffine (toluène, benzène, xylène), puis la réhydratation a lieu dans des solutions d'alcools à titre décroissant et qui consiste à remplacer la paraffine par l'eau intracellulaire.

* **Coloration** : le but de la coloration est d'augmenter le contraste entre les structures cellulaires qui ont des indices de réfraction très voisins et sont donc translucides au MO.

Un colorant est une substance colorée qui transmet sa couleur ; on dénombre trois sortes de colorants :

- colorants acides, colore le cytoplasme en rose ; ex. : éosine
- colorants basiques, colore le noyau en bleu ; ex.: hématoxyline, bleu de méthylène
- colorants neutres, mélanges de colorants acides et basiques ; ex. : MGG ou May Grünwald Giemsa.

On distingue trois sortes de coloration :

- la **coloration topographique** qui permet d'observer l'architecture cellulaire
- la **coloration cytochimique** qui permet de mettre en évidence une **molécule** précise dans la cellule.
- La **coloration spéciale** qui permet de visualiser une **structure** cellulaire précise, ex. : l'imprégnation argentique pour les fibres de réticuline, la coloration de Perles pour le fer, la coloration de Feulgen pour l'ADN et la coloration PAS (périodic acid Schiff) pour les glucides.

La **coloration PAS** est une technique courante en milieu hospitalier qui se fait en deux étapes :

- Oxydation par l'acide périodique qui transforme les groupements glycols en aldéhydes
- Détection des aldéhydes à l'aide du réactif de Schiff (solution d'anhydride qui réagit avec les aldéhydes libres).

Lorsque la réaction est positive, elle révèle une coloration rouge pourpre.

* **Déshydratation** : après coloration, les coupes sont de nouveau déshydratées dans des bains croissants d'alcool.

* **Montage des coupes** : se fait entre lame et lamelle, qui sont collées l'une à l'autre avec le liquide de montage (Eukitt, Baume de Canada).

2°) Microscopes photoniques spéciaux

cf. film "Examen microscopique de cellules vivantes" à la médiathèque de la Faculté.

* Microscope à fluorescence ou à lumière ultraviolette (UV)

Il est équipé d'un faisceau lumineux à UV ($\lambda = 200-390$ nm) et permet la détection des colorants fluorescents utilisés en techniques d'immunofluorescence.

* Microscope à contraste de phase

Permet l'observation de cellules vivantes non colorées, en culture cellulaire par exemple. Il est équipé d'objectifs spéciaux qui transforment les différences d'amplitude en différences de phases.

*** Microscope à interférence**

Permet l'observation de cellules vivantes non colorées ainsi que la mesure des indices de réfraction des structures cellulaires.

B. Microscopie électronique

Permet d'observer l'ultrastructure (organites) et les reliefs cellulaires. On distingue le MET et le MEB.

1) Microscope électronique à transmission (MET)

a. Optique de base

cf. TD et polycopié des schémas

b. Préparations biologiques

Les cellules et tissus fixés peuvent être préparés par coupe ultramince, coloration négative ou cryodécapage.

b1. Coupe ultramince

Suit les mêmes étapes que pour le MO, avec cependant quelques variations :

*** Fixation** : double fixation au glutaraldéhyde puis au tétroxyde d'osmium (O_4S_4).

Le glutaraldéhyde permet des pontages covalents entre molécules protéiques voisines. Le tétroxyde d'osmium stabilise les doubles couches lipidiques et les protéines.

*** Inclusion** : fait intervenir des résines de synthèse très dures et transparentes aux électrons ; ex. : résines Epoxy, araldite.

* **Ultramicrotomie** : coupes ultraminesces ($\leq 0,1 \mu\text{m}$) d'environ 50 à 80 nm et effectuées à l'aide d'un ultramicrotome avec un couteau en verre ou en diamant. Les coupes sont recueillies sur des grilles métalliques.

* **Contrastage** : effectué par des sels de métaux lourds ; ex. : osmium, plomb, uranium, etc. qui absorbent ou réfléchissent les électrons.

L'observation des coupes ultraminesces se fait au MET qui donne des images en noir et blanc sur un écran phosphorescent. Les structures cellulaires apparaissent plus ou moins denses sur un fond clair (coloration positive).

ex. : les gouttelettes lipidiques apparaissent noires et la lame basale en fin liseré gris.

b.2. Coloration négative

Permet d'observer des macromolécules isolées (microtubules), des ribosomes et des virus. Elle permet le contrastage non pas de la structure cellulaire mais de l'espace qui l'entoure.

Technique

- Particules biologiques en suspension dans une solution opaque aux électrons ; ex. : acide phosphotungstique.
- Dépôt d'une goutte de cette suspension sur le porte-objet (grille métallique)
- Après séchage, la substance opaque aux électrons se dépose autour de la particule à observer qui apparaîtra claire sur un fond sombre (contraste inverse ou négatif).

b3. Cryodécapage ou cryofracture

Consiste à préparer des répliques cellulaires pour visualiser l'intérieur des cellules ou l'intérieur des membranes cellulaires.

Technique

- Congélation rapide d'une cellule ou d'un fragment membranaire dans l'azote liquide (-196°C)
- Fracture sous vide à -100°C du bloc de glace obtenu

La ligne de fracture suit préférentiellement les lignes de moindre résistance, ce qui sépare les deux feuillets sombres de la membrane

- Sublimation de la glace par échauffement de $+100^{\circ}\text{C}$

Cette étape permet d'avoir des surfaces membranaires ou cellulaires plus dégagées

- Ombrage par dépôt métallique (platine en poudre) sur la surface fracturée
- Vaporisation verticale de carbone pour consolider le dépôt précédent
- Dissolution de l'échantillon en utilisant des solvants organiques
- Obtention d'une réplique métallique de la structure cellulaire
- Observation de la réplique obtenue au MET

Cette technique appliquée à la membrane plasmique révèle que cette dernière est formée de structures globulaires et d'un fond lisse.

2. Microscope électronique à balayage (MEB)

a. Optique de base

cf. polycopié des schémas et TD.

b. Intérêt

Observation des reliefs cellulaires et des images cellulaires en 3 dimensions (3D).

c. Préparations biologiques

Cellules, bactéries et virus. Les objets à observer sont fixés, déshydratés puis recouverts d'une mince couche de métal (Or-Palladium ou Platine) vaporisée sous vide et produisant un échantillon massif.

d. Observation

La surface métallisée de l'échantillon subit un balayage régulier par un faisceau d'électrons qui entraîne l'émission d'électrons secondaires par la surface métallisée. Ces électrons seront collectés par un détecteur d'électrons puis convertis en images par un convertisseur d'électrons.

L'image finale apparaît sur un écran de télévision. Elle a un aspect tridimensionnel parce qu'elle est formée de points lumineux constitués d'électrons II émis et de points sombres (dépressions sans émission d'électrons).

II) ETUDE BIOCHIMIQUE

A. Fractionnement cellulaire par centrifugation

Il a pour but de séparer les différents organites afin de déterminer leur composition biochimique et de suivre leur métabolisme.

Le fractionnement cellulaire se déroule en trois étapes, dissociation cellulaire, éclatement cellulaire ou homogénéisation et fractionnement ou séparation des organites.

1. Dissociation des cellules

Peut être mécanique ou chimique

1.1. Dissociation mécanique

Se fait dans un milieu isotonique à 0°C et à l'aide d'un broyeur cellulaire ou Potter.

1.2. Dissociation enzymatique : 3 étapes

a) Enzymes protéolytiques : trypsine, collagénase.

b) Chélateurs de calcium : EDTA (éthylène diamine tetracétique)

c) Séparation des différentes catégories cellulaires ou isolement cellulaire

Fait intervenir des aimants cellulaires :

- anticorps spécifiques fixés sur billes en plastique puis couplés aux cellules
- anticorps fluorescents spécifiques couplés aux cellules puis tri cellulaire par cytofluorimètre (cf. cours magistral).

On peut utiliser aussi la propriété d'adhésion des cellules au verre ou au plastique.

2. Eclatement cellulaire ou homogénéisation

Différentes possibilités :

- Broyage mécanique au Potter
- Choc osmotique en milieu hypotonique (0,5% NaCl)
- Vibration ultrasonique

- Passage cellulaire à travers un petit orifice

Résultat : homogénat ou lysat contenant les différents organites mélangés.

3. fractionnement ou séparation des organites cellulaires

Se fait par ultracentrifugation qui sépare les organites cellulaires selon leur forme, leur taille et leur densité. Elle peut être faite par ultracentrifugation différentielle ou par ultracentrifugation en gradient de densité

@ Ultracentrifugation différentielle

C'est une succession de centrifugations de plus en plus rapides et de plus en plus prolongées. On retire le culot à chaque étape et on re-centrifuge le surnageant. L'ordre de sédimentation est : noyaux, mitochondries, lysosomes, microsomes, ribosomes et cytosol.

On peut isoler une fraction cellulaire contenant un organite donné en utilisant des enzymes spécifiques ; ex. : phosphatase acide pour les lysosomes, cytochrome oxydase pour les mitochondries.

Microsomes : fragments membranaires cytoplasmiques provenant de la membrane plasmique, appareil de Golgi, REL ou REG. Ils peuvent être lisses ou rugueux (présentant des ribosomes).

Cytosol : phase soluble du cytoplasme et qui comporte toutes les molécules solubles ex.: protéines, glucides, sels, etc.

@ Ultracentrifugation en gradient de densité ou de sédimentation

Permet de centrifuger l'homogénat sur un gradient de concentration décroissant du bas vers le haut ; elle utilise un gradient de saccharose ou de chlorure de césium artificiellement réalisé dans le tube.

Les particules cellulaires se répartissent sous forme de bandes dans la zone du gradient de densité voisine ou égale à la leur. Cette technique rend compte de la vitesse de sédimentation et de la densité des particules isolées.

Coefficient de sédimentation : chaque organe possède une vitesse de sédimentation (VS) qui lui est propre appelé coefficient de sédimentation et qui est exprimé en Swedberg (S) qui est une unité de vitesse dans un champs centrifuge.

Exemples de VS :

Ribosomes procaryotes : 70 S

Ribosomes eucaryotes : 80 S

B. Chromatographie et électrophorèse

Ces deux techniques séparent les protéines cytosoliques (cf. cours Biochimie)

C. Spectrophotométrie d'absorption (cf. cours Biophysique)

III. ETUDE DU FONCTIONNEMENT CELLULAIRE

A. Culture cellulaire

cf. film "Culture organotypique de tumeurs humaines" à la médiathèque de la Faculté.

La culture cellulaire consiste à maintenir des cellules vivantes en dehors de l'organisme (in vivo) dans des récipients de culture (in vitro) avec des milieux de culture.

Technique

- Prélèvement d'un fragment tissulaire vivant
- Trypsination par une enzyme qui dissocie les cellules ; ex: trypsine, collagénase
- Addition d'un milieu de culture qui permet la prolifération cellulaire
- Repiquage des cellules.

Milieux de culture

Peut être liquide ou gélifié ; sa composition de base est l'eau, sels minéraux, vitamines, acides aminés ou protéines, glucose, antibiotiques, sérum de veau fœtal (SVF) et facteurs de croissance. Ex. de milieu de culture : MEM , RPMI.

Facteur de croissance est un petit peptide sécrété par un tissu pour influencer la croissance, la multiplication et la différenciation de ses cellules. Il est non véhiculé par le sang et possède un récepteur spécifique au niveau des cellules de ce tissu ;

ex. : EGF, NGF, PDGF (epidermal groth factor, nerve groth factor et platelette derived groth factor).

Récepteurs de culture

Ils sont en plastique ou en verre ; ex : flacons, bouteilles de Roux, boîtes de Petri, tubes à essai, boîtes de culture, etc.

Conditions de culture

- Stérilité : maximum à l'aide de hotte à flux laminaire, lampe à UV, germicides, etc.
- pH : 7 à 7,4
- Température : 37°C (étuve)
- Ambiance : 95 % d'air et 5 % de CO₂ (étuve) qui permet le maintien du pH.

Comportement des cellules en culture

Les cellules normales se divisent un certain nombre de fois puis meurent ; ex.: - les cellules de la peau se divisent 50 à 100 fois en culture avant de mourir.

- les cellules cancéreuses sont immortelles in vitro et constituent des lignées cellulaires spéciales ; ex.:
- souche Héla : cellules épithéliales humaines d'une tumeur maligne du col de l'utérus (d'Hélène décédée en 1953)
- souche 3T3 : fibroblastes malignes de souris
- souche L6 : myoblastes malignes de rat.

Comparaison des cellules normales et des cellules cancéreuses en culture

	<i>Cellules normales</i>	<i>Cellules cancéreuses</i>
<i>Prolifération</i>	rayonnante	anarchique
<i>Répartition</i>	monocouche	couche épaisse
<i>Inhibition de contact</i>	oui	non

L'inhibition de contact est une propriété des cellules normales in vitro et qui se manifeste par un arrêt de leurs divisions lorsqu'elles confluent.

Un ***clone*** est une famille de cellules provenant par division d'une seule cellule mère. Toutes les cellules d'un clone possèdent le même patrimoine génétique et sont identiques sur le plan morphologique.

Rq : des cultures de tissus (cartilage) ou d'organes (peau) ont pu être effectuées pour la chirurgie réparatrice ou esthétique (cf. Revue "Pour la Science" Décembre 1999 N° spécial).

Applications de la culture cellulaire en médecine

1 - Etude de cytotoxicité

L'effet cytotoxique de médicaments, de nouvelles molécules ou de toxines marines peut être étudié in vitro sur des cellules vivantes en culture.

2 -Analyse du caryotype

Des anomalies chromosomiques peuvent être détectées par analyse du caryotype anté ou postnatal.

Technique du caryotype

- Mise en culture de cellules vivantes (lymphocytes)
- Arrêt des mitoses en métaphase (colchicine)
- Eclatement des cellules par un choc hypotonique (KCl à 6 %)
- Fixation des chromosomes par un mélange d'acide acétique et d'éthanol
- Coloration des chromosomes au Giemsa 4 %
- Observation au microscope optique
- Photographie des mitoses
- Agrandissement des photographies
- Comptage et classement des chromosomes.

3- Etablissement de la carte des gènes

Se fait par la technique des cellules hybrides ou hybridomes

ex. : hybride homme/souris

Technique

- Fusion de cellules homme/souris produisant un **hétérocaryon**
- Plusieurs mitoses de l'hétérocaryon
- Obtention de cellules hybrides avec un noyau unique et volumineux
- Clonage des cellules hybrides produisant des lignées différentes de cellules hybrides

Les cellules hybride homme/souris sont instables et perdent principalement les chromosomes humains. Ceci permet d'avoir des lignées cellulaires hybrides avec 1 ou 2 chromosomes humains et donc d'établir la carte des gènes humains.

4- Fabrication des anticorps monoclonaux

cf. paragraphe suivant

B -MARQUAGE CELLULAIRE

Il permet la détection d'une molécule cellulaire précise en utilisant des isotopes radioactifs ou des anticorps.

B1. Marquage cellulaire par les isotopes radioactifs (IR)

Les isotopes radioactifs sont des corps naturels qui diffèrent légèrement par la masse de leurs noyaux mais qui ont le même nombre d'électrons périphériques. Ils sont instables et subissent des désintégrations et des émissions de particules énergétiques ou radiations.

Exemples d'IR :

- Tritium (H_3) : isotope de H_2
- Carbone 14 (C_{14}) : isotope du C_{12}
- Iode 132 (I_{132}) : isotope du I_{131}
- Calcium 45 (Ca_{45}) : isotope du Ca_{44}

Les IR permettent de poursuivre la synthèse d'une molécule précise dans la cellule. Pour cela un atome d'un précurseur de la molécule sera substitué par son isotope radioactif ; ex. : le C_{12} par le C_{14} ou l'hydrogène par le tritium.

Détection des IR

1 - Compteur Geiger

Permet une détection par des bip Sonores. Les radiations des IR ionisent un gaz qui se trouve dans cet appareil.

2 - Compteur à scintillation ou scintigraphe

Permet une détection visuelle des radiations des IR. Ces dernières ionisent un liquide scintillant de l'appareil entraînant l'émission de petits éclairs lumineux.

3 - Autoradiographie ou autohistoradiographie

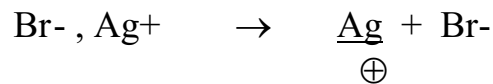
Permet de détecter et de localiser des isotopes radioactifs sur des coupes histologiques.

Technique

- IR injectés à l'animal ou additionnés au milieu de culture
- Prélèvement des cellules à des intervalles variés (t_0 , t_1 , t_2 , etc.)
- Fixation et préparation des cellules pour le MO ou pour le ME
- Emulsion photographique sur coupes
- Obscurité pendant une certaine période (quelques jours à quelques mois) pour la désintégration des IR
- Observation au MO ou au ME

Résultat: dépôts sombres (grains d'argent) à l'endroit de la coupe comportant des IR.

Explication : l'émulsion photographique est à base de bromure d'argent (Br^- , Ag^+). Lorsque le rayonnement bêta (ou électrons) sera émis par les IR, il réduit les grains de bromure d'argent invisibles en grains d'argent visibles à l'endroit de la cellule où le rayonnement a été émis.



Exemples :

- Thymidine tritiée utilisé par l'ADN marque le noyau
- Uridine tritiée marque le noyau puis le cytoplasme car utilisé par l'ARN qui est synthétisé dans le noyau avant de passer dans le cytoplasme.

Rq : l'or colloïdal est un marqueur cellulaire utilisé pour le ME.

B2. Marquage cellulaire par les anticorps (Ac)

L'anticorps est une protéine sérique appelée immunoglobuline (Ig) et qui est produite par les vertébrés (homme) pour se défendre (immunité) contre l'infection. Sa sécrétion se fait par le lymphocyte B et induite par un antigène (Ag) spécifique. La réaction Ac-Ag est donc spécifique et elle est révélée par immunohistochimie.

Technique d'immunohistochimie

Permet la révélation sur coupe histologique d'Ag après application de l'Ac spécifique. Deux variantes, l'immunofluorescence (IF) et l'immunoenzymologie (IE).

Technique d'IF

- Couplage de l'Ac à un fluorochrome (méthode directe)
- Application de l'Ac sur coupe histologique susceptible de contenir l'Ag spécifique
- Lavage éliminant les Ac fluorescents non fixés sur leurs Ag
- Observation au microscope à fluorescence de la réaction Ac-Ag rendue fluorescente.

Exemples de fluorochromes :

isothiocyanate de fluorescéine (FITC) verte

l'isothiocyanate de rhodamine (RITC) rouge.

Technique d'IE

- Couplage de l'Ac à une enzyme

- Application de l'Ac sur coupe histologique susceptible de contenir l'Ag spécifique
- Lavage éliminant les Ac non fixés sur leurs Ag
- Révélation de l'enzyme par un chromogène
- Observation au MO ou au ME après coloration de fond des tissus (hématoxyline pour le MO).

Exemple de chromogènes : la peroxydase est révélée pour le MO par le Diamino Benzidine (DAB) donnant une couleur brune ou par le Benzidine Déhydro Chloride (BDHC) donnant une couleur bleue.

Fabrication des Ac

1) Par immunisation d'un animal : Ac polyclonaux

L'injection de l'Ag à un animal (lapin, souris, etc.) permet d'obtenir un antisérum (sérum animal avec anticorps) contenant des anticorps polyclonaux (mélange d'Ac) qui ont l'inconvénient d'être polyspécifiques car chacun d'eux reconnaît un seul site de l'Ag ou épitope.

2) Par hybridation cellulaire : Ac monoclonaux

Technique des hybridomes

- Hybridation d'un lymphocyte B (humain) producteur d'un Ac donné et d'un lymphocyte B (murin) cancéreux (immortel) donnant des hybridomes
- Clonage de ces hybridomes et sélection des cellules hybrides capables de se multiplier indéfiniment en culture et de sécréter un seul type d'Ac (spécifique d'un seul site d'Ag) et donc monospécifique ou monoclonal.

Chapitre 2 MEMBRANE PLASMIQUE

Objectifs

Définir la membrane plasmique

Citer et décrire les constituants biochimiques de la membrane plasmique

Décrire l'organisation moléculaire de la membrane plasmique

Décrire le modèle en mosaïque fluide de Singer et Nicolson

Expliquer les causes de l'asymétrie de la membrane plasmique

Citer les différents rôles de la membrane plasmique

Définir la perméabilité cellulaire

Expliquer les lois des phénomènes suivants : osmose, échanges respiratoires, échanges d'ions et de petites molécules à travers La MP

Expliquer le mécanisme de la diffusion facilitée

Définir la perméase

Expliquer les lois de la perméabilité active

Expliquer le mécanisme de la pompe à sodium-potassium

Expliquer le mécanisme de la pompe multi-résistante aux drogues

Expliquer les lois des échanges cytotiques

Définir et expliquer le phénomène d'endocytose

Définir et expliquer les phénomènes suivants : phagocytose, pinocytose, potocytose et endocytose par des récepteurs.

Citer des substances internalisées par endocytose

Citer des cellules effectuant l'endocytose

Définir et expliquer le phénomène d'exocytose

Définir les grains de zymogène

Citer des substances éliminées par exocytose

Citer des cellules effectuant fréquemment l'exocytose

Citer des substances pharmacologiques ayant un effet sur les échanges membranaires et expliquer leur mode d'action

Citer les différentes modalités de communication cellulaire

Définir le récepteur membranaire

Expliquer, avec des exemples, les mécanismes de transmissions suivants : neuronale, hormonale, par les médiateurs chimiques locaux et par les molécules de signalisation dépendant du contact

Définir : récepteur de surface, reconnaissance cellulaire et antigène de surface

Définir et donner des exemples des récepteurs suivants : récepteur couplé à un canal ionique, récepteur couplé à une enzyme et récepteur couplé à une protéine G

Définir la protéine G

Définir et expliquer le rôle des antigènes tissulaires

Définir et expliquer le rôle des antigènes d'histocompatibilité

Définir le système HLA ou CMH (complexe majeur d'histocompatibilité)

Définir et expliquer le rôle des agglutinogènes A et B

Citer le ou les groupes sanguins portant les agglutinogènes A,B

Citer des maladies dues à l'altération des récepteurs cellulaires

Expliquer l'intervention des récepteurs dans les pathologies suivantes : maladies auto-immunes et cancérisation des cellules

Expliquer le phénomène d'adhérence cellulaire

Définir les CAM Ca^{2+} -indépendantes

Définir les CAM Ca^{2+} -dépendantes

Définir les termes : SAM intégrines et SAM non intégrines

Citer les pathologies liées aux CAM et aux SAM

Citer les différentes adaptations morphologiques de la MP

Citer et définir les adaptations morphologiques augmentant la surface d'échange

Définir les adaptations morphologiques assurant les mouvements cellulaires

Définir les adaptations morphologiques latérales assurant la cohésion cellulaire

Définir l'espace intermembranaire

Citer les différentes jonctions intercellulaires

Définir chacune des jonctions intercellulaires

Définir le complexe de jonctions

Décrire le mécanisme de renouvellement de la MP.

I. Définition et généralités

La membrane plasmique est une enveloppe continue, mince, non visible au MO et qui sépare le cytoplasme du milieu extracellulaire. Elle est semi-perméable et permet des échanges de substances et d'informations entre les milieux intra et extracellulaire.

Les **endomembranes** ou membranes intracellulaires sont les membranes qui entourent les différents organites de la cellule.

Membranes biologiques = MP + endomembranes

II. Composition biochimique et organisation moléculaire

A - Composition biochimique

L'analyse biochimique de fragments membranaires obtenus par hémolyse et ultracentrifugation d'hématies a révélé

- 40 % de lipides (80% gaine de myéline)
- 60 % de protéines
- glucides ; liés aux protéines (glycoprotéines) ou aux lipides (glycolipides).

1°) Lipides

Constituent la structure de base des membranes biologiques. Ce sont des molécules amphotères avec une partie hydrophobe et une partie hydrophile. Ils sont de deux types, phospholipides et cholestérol.

a - Phospholipides

Lipide complexe formé par un glycérol (tri alcool) lié à deux chaînes d'acide gras (côté hydrophobe) et à un phosphate. Le phosphate peut être lié à de petites molécules hydrophiles (côté hydrophile) tels que la choline (la plus abondante), la sérine, l'inositol et l'éthanol donnant ainsi la phosphatidyl-choline, la phosphatidyl-sérine, la phosphatidyl-éthanol et la phosphatidyl-inositol.

Le glycérol du phospholipide peut être remplacé par une sphingosine qui sera estérifiée aux acides gras pour former des sphingolipides

ex : sphingomyéline, abondante dans les membranes des gaines de myéline.

b - Cholestérol

Lipide simple formé d'une molécule d'alcool, de quatre cycles et d'une chaîne hydrocarbonée.

2°) Protéines

Sont de deux types, périphériques ou intégrées dans la double couche lipidique.

a- Protéines périphériques ou extrinsèques

Elles sont hydrophiles et se trouvent des deux côtés de la membrane plasmique (hyaloplasmique et extracellulaire). Elles établissent des liaisons faibles avec les autres molécules de la membrane plasmique (extraction douce par une solution saline).

b- Protéines intégrées ou intrinsèques

Elles sont amphothères, avec une partie hydrophobe enfouie dans la bicouche lipidique et une partie hydrophile émergente dans le hyaloplasme ou dans le milieu extracellulaire. Elles peuvent être

- soit intégrées dans une seule hémi-couche ;

ex. : spectrine dans la couche interne et ankyrine dans la couche externe.

- soit traversant une ou plusieurs fois les deux couches lipidiques (protéines transmembranaires) ; ex. : glycophorine de la membrane de l'hématie.

Les protéines intégrées sont fortement liées aux lipides ; leur extraction se fait uniquement par des solvants organiques ou par des détergents ; ex. : SDS (Sodium Dodéco Sulfate).

3°) Glucides

Ce sont des oligo ou polysaccharides fixés sur les lipides ou sur les protéines. Ils forment une enveloppe protectrice d'hydrates de carbone et assurent :

- l'adsorption et la rétention de molécules (ions, facteurs de croissance, etc.)
- un rôle antigénique par les antigènes de surface (cf. plus loin).

B. Organisation moléculaire

Déterminée selon le modèle de Singer et Nicolson par deux techniques d'analyse : coupes ultraminces et cryodécapage (cf. photocopié des schémas).

1 - Coupes ultraminces

Ont montré que la membrane est trilaminaire (trilamellaire), avec une épaisseur de 7,5 nm. Elle présente :

- deux feuillets sombres (osmiophiles) de 2 nm d'épaisseur chacun,
 - feuillelet sombre externe du côté extracellulaire
 - feuillelet sombre interne du côté cytoplasmique
- un feuillet clair (non osmiophile), feuillet intermédiaire de 3,5 nm
- un cell coat (manteau cellulaire ou revêtement fibrillaire ou glycocalyx) du côté extracellulaire et d'environ 20 nm (200 nm pour les entérocytes).

2 - Cryodécapage

Permet le clivage de la membrane plasmique en deux couches :

- couche exoplasmique externe (ou face E)
- couche protoplasmique interne (ou face P)

Les deux couches renferment des particules globulaires intramembranaires (protéines) et un fond lisse (lipides) (cf. photocopié des schémas).

Selon le modèle de Singer et Nicolson, la membrane plasmique est une **mosaïque fluide** où :

Les **lipides** membranaires forment une double couche avec les parties hydrophobes (queues) face-à-face, et les parties hydrophiles (têtes) vers les milieux aqueux (hyaloplasmique et extracellulaire).

Les **protéines** sont dispersées, les extrinsèques sont hydrophiles, les intrinsèques sont hydrophobes au niveau des parties enfouies dans la double couche lipidique et hydrophiles au niveau des parties émergentes.

Les **glucides** sont liés aux protéines ou aux lipides par des liaisons covalentes. Ils se trouvent uniquement du côté extracellulaire (côté luminal pour les endomembranes) ce qui rend la membrane plasmique asymétrique.

Asymétrie de la membrane plasmique

En plus de la présence des glucides du côté extra-cellulaire seul, il existe d'autres causes d'asymétrie :

- certaines **protéines intrinsèques** se trouvent uniquement au niveau d'une seule hémi-membrane
- le **feuillet** externe est riche en phosphatidyl-choline et en sphingomyéline, alors que le feuillet interne est riche en phosphatidyl-sérine et en phosphatidyl-éthanolamine.
- sur la face interne de la membrane plasmique, des **protéines fibreuses** du cytosquelette comme l'actine sont associées directement ou indirectement à des protéines membranaires. Ce qui forme un feutrage, plus ou moins dense sous la membrane plasmique appelé **cortex cellulaire** (cf. chapitre 3).

Fluidité de la membrane plasmique

Toutes les molécules de la membrane plasmique sont fluides, elles effectuent des mouvements de rotation, de translation, de flip-flop pour les lipides qui changent de couche utilisant enzyme et énergie. La fluidité membranaire est influencée par plusieurs facteurs :

- la **longueur de la chaîne hydrocarbonnée** des phospholipides : la fluidité de la membrane est augmentée en présence d'une courte chaîne hydrocarbonnée
- le **taux d'insaturation des acides gras** (nombre de doubles liaisons) : la fluidité diminue lorsque le nombre de doubles liaisons augmente
- la **teneur en cholestérol** : une teneur importante en cholestérol diminue la fluidité membranaire

- la **température** et le **pH** : une température élevée et un pH acide augmentent la fluidité membranaire.

NB : les endomembranes possèdent la **même structure** que la membrane plasmique (notion de **membrane unité**). Quelques différences existent cependant entre elles, comme l'épaisseur de la membrane, la nature et la teneur des lipides, la nature des protéines, etc.

III. Rôles physiologiques de la membrane plasmique

Elle assure les **échanges de substances**, la **communication cellulaire** et l'**adhérence cellulaire**.

A - Echanges de substances

On distingue deux grands groupes de transport

- transport membranaire sans déformation de la membrane plasmique et se déroulant à l'échelle moléculaire, c'est la **perméabilité membranaire**
- transport membranaire nécessitant une déformation de la membrane plasmique et observable au microscope, ce sont les **échanges cytotiques** ou endocytose/exocytose.

1) Echanges par perméabilité

Ces phénomènes permettent à la cellule d'ajuster en permanence la composition du hyaloplasme. Ces transports sont classés selon qu'il y ait ou pas consommation d'énergie (transports passif et actif).

1.2) Perméabilité passive

A lieu selon le gradient de concentration, sans consommation d'énergie cellulaire ou ATP (adénosine triphosphate). Elle se fait soit sans perméase (diffusion simple) soit avec perméase (diffusion facilitée).

Diffusion simple

Concerne les gaz (O_2 , CO_2 et NO), l'eau, les ions et les petites molécules non chargées électriquement (eau, urée, éther, chloroforme, éthanol, glycérol et glucose) :

- les gaz diffusent rapidement à travers la double couche lipidique
- les petites molécules polaires et non chargées diffusent facilement à travers la membrane plasmique. Cependant leur vitesse de pénétration dépend de leur taille et de leur liposolubilité.

Rq :

- l'eau doit traverser une membrane liposoluble, pour cela il effectue le phénomène d'**adhérence moléculaire** en formant un chapelet de molécules d'eau qui diffusent plus facilement à travers les phospholipides.
- à certains niveaux de l'organisme humain (capillaires sanguins, tubes urinifères) un courant de molécules se déplace dans la même direction que l'eau, c'est le **phénomène de filtration**. Lors de ce phénomène :

- la vitesse de pénétration des molécules d'eau devient plus importante
- l'eau passe à travers des pores transitoires ou agrégats de protéines transmembranaires (appelées aquaporines) qui accélèrent son passage.
- le passage d'eau est sous influence hormonal (ADH ou Anti Diurétique Hormone et vasopressine), ce qui entraîne une agrégation des protéines transmembranaires.

NB : les ions et les petites molécules chargées électriquement diffusent à travers des canaux ioniques (protéines membranaires) qui sont des domaines hydrophiles de la membrane plasmique.

b) Diffusion facilitée (DF)

C'est une perméabilité passive accélérée par des transporteurs ou perméases. Elle concerne des molécules privilégiées de la cellule comme le glucose. La perméase est une protéine transmembranaire spécifique à une substance précise et dont elle possède un site de fixation. Elle peut être présente aussi au niveau des endomembranes.

Mécanisme

- Fixation du ligand sur son site au sein de la perméase

- Changement de la conformation de la perméase en utilisant l'énergie due à l'agitation moléculaire.

- Pénétration du glucose dans la cellule

- Retour de la perméase à la conformation initiale

Facteurs influençant la vitesse de pénétration des substances par DF :

- la **différence de concentration** de la substance entre les deux milieux :elle est maintenue dans le cas du glucose par la glycolyse immédiate dans la cellule

- le contrôle **hormonal** parfois; ex : insuline dans le cas du glucose

- le nombre de **perméases** dans la membrane plasmique avec un plateau de saturation et une vitesse maximale de pénétration.

1.3) Perméabilité active

A lieu contre le gradient de concentration, avec couplage du transport à un mécanisme produisant de l'énergie comme l'ATPase Na^+/K^+ et la pompe MRD.

a) ATPase Na^+/K^+

Protéine transmembranaire formée de deux sous-unités avec chacune un site spécifique pour Na^+ et un site spécifique pour K^+ . Elle couple le transport du sodium et du potassium à l'hydrolyse de l'ATP et permet l'entrée de deux ions K^+ dans la cellule et la sortie de trois ions Na^+ .

Mécanisme de l'ATPase Na^+/K^+

Plusieurs étapes qui se succèdent :

Etape 1

- fixation de 3 ions Na^+ intra cellulaires sur leur site spécifique

- hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi

- phosphorylation de la pompe et changement de sa conformation en utilisant l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP.

Etape 2

libération de 3 ions Na^+ dans le milieu extracellulaire et fixation de 2 ions K^+ extracellulaires sur leur site.

Etape 3

déphosphorylation de la pompe, retour de la pompe à sa conformation initiale en utilisant l'énergie de l'ATP et libération de 2 ions K^+ dans le cytosol.

Etape 4 :

retour de la pompe à l'état initial et possibilité de fixer de nouveau 3 autres ions Na^+ .

Rq :

- une seule molécule d'ATP est suffisante pour effectuer un cycle complet.
- en parallèle à la pompe Na^+/K^+ , une **diffusion simple** des ions K^+ (vers l'extérieur) et de Na^+ (vers l'intérieur) a lieu.
- l'ouabaine (utilisée en thérapeutique cardiovasculaire chez l'homme) inhibe l'activité de la pompe et empêche la liaison avec K^+ .
- l'ATPase- H^+ est présente dans la membrane des lysosomes et dans les cellules pariétales de l'estomac où elle établit un pH acide
- l'ATPase- Ca^{2+} est présente dans la membrane du réticulum endoplasmique qui est un réservoir à Ca^{2+}
- le glucose rentre dans la cellule par perméabilité active et aussi grâce à l'ATPase glucose- Na^+ .

b) Pompe multi-résistante aux drogues

Encore appelée pompe MRD ou P-glycoprotéine ou P-gp. Elle est peu spécifique, ATP-dépendante et assure le transport de nombreuses drogues ou médicaments à l'extérieur de la cellule. Elle est présente dans les cellules normales et cancéreuses, et assure la résistance des cellules tumorales à la chimiothérapie et du plasmodium (parasite responsable du paludisme) aux médicaments antipaludéens.

2) Echanges cytotiques

Elles concernent les macromolécules, les bactéries et les virus et se font par déformation de la membrane plasmique. Elles font intervenir le Ca^{2+} , le cytosquelette, le système endomembranaire et consomment de l'énergie. On distingue deux processus :

- **Endocytose** : pénétration ou **internalisation** de substances dans la cellule et formation de vésicules.

- **Exocytose** : expulsion de substances hors de la cellule et disparition de vésicules.

Certaines cellules (entérocyte, cellule endothéliale) assurent l'internalisation de substances par endocytose et leur expulsion par exocytose sans qu'elles soient utilisées par la cellule, on parle dans ce cas de **transcytose**.

2.1. Endocytose

Phénomène localisé (clathrines) qui fait pénétrer (internaliser) des substances dans la cellule. Il utilise 4 modalités : la phagocytose, la pinocytose, l'endocytose par des récepteurs et la potocytose.

a) Phagocytose

Phénomène observé au MO et qui fait pénétrer des substances solides et volumineuses dans la cellule et permet la destruction de cellules ou de parties cellulaires.

Le macrophage est la cellule phagocytaire type présent dans tout type de tissus. Les polynucléaires, les cellules de Küpffer du foie et les ostéoclastes sont également des cellules macrophages qui assurent la phagocytose.

Mécanisme

- adsorption des particules à phagocyter contre la région de la MP avec des clathrines (protéines membranaires extrinsèques)
- invagination de la membrane plasmique grâce aux clathrines

- formation de vacuole de phagocytose ou **phagosome**
- détachement du phagosome et migration dans le hyaloplasme
- fusion du phagosome avec le lysosome I et formation d'un lysosome II
- acidification du lysosome II par ATPase H^+
- dégradation du contenu de la vacuole digestive par les enzymes lytiques du lysosome.

b) Pinocytose

Pénétration dans la cellule et grâce aux clathrines de liquide contenant des molécules en suspension. Elle concerne tous les types cellulaires et assure la nutrition. Elle permet la formation de petites vésicules qui fusionnent d'abord entre elles, puis avec le lysosome I.

c) Endocytose par l'intermédiaire de récepteurs

Phénomène qui pour internaliser des substances fait intervenir en plus des clathrines, des récepteurs membranaires spécifiques. Il concerne les molécules de PM élevé comme le complexe LDL (Low Density Lipoprotéine) ou le complexe fer-transferrine

Endocytose des LDL : dans le sang, le cholestérol est associé à des LDL, complexe de lipoprotéines hydrosolubles qui entourent le cholestérol et le sépare du sang. Chaque LDL est constitué d'une monocouche phospholipidique où s'insèrent des apolipoprotéines B.

Mécanisme

- adsorption des LDL sur la MP au niveau de régions contenant à la fois des clathrines et des récepteurs reconnaissant les apolipoprotéines B du LDL
- formation d'un puit recouvert de clathrines et de dynamine-GTP
- formation d'une vésicule recouverte de clathrines et de dynamine-GTP
- rétraction de la membrane et détachement de la vésicule d'endocytose
- dénudement des vésicules d'endocytose par détachement des clathrines

- bourgeonnement de deux vésicules : vésicule à LDL et vésicule de recyclage des récepteurs
- fusion de la vésicule des récepteurs avec la MP et fusion de la vésicule à LDL avec le lysosome I
- dégradation de la paroi des LDL par les enzymes lytiques et libération du cholestérol dans le cytosol
- recyclage des molécules de la paroi des LDL vers la MP.

Clathrine : protéine extrinsèque de la MP sous forme de triskerion (3 bras) ; elle est située du côté hyaloplasmique au niveau des localités d'endocytose et peut être liée à la MP par l'adaptine.

NB : le complexe transferrine/fer suit le même mécanisme d'endocytose que celui des LDL.

d) Potocytose

Phénomène d'endocytose utilisant à la fois des récepteurs membranaires et des perméases.

Mécanisme

- fixation du ligand sur son récepteur au niveau de la membrane plasmique
- bourgeonnement incomplet d'une vésicule membranaire ou cavéole
- fermeture de la cavéole et acidification de son contenu par l'ATPase- H^+
- dissociation du complexe ligand-récepteur
- passage du ligand de la cavéole vers le cytosol à travers une perméase
- réouverture de la cavéole et ses récepteurs vers le milieu extra-cellulaire.

Substances internalisées par potocytose

- Tétrahydrofolate, précurseurs des purines et de certains acides aminés
- Toxine de choléra.

2.2. Exocytose

Phénomène inverse de l'endocytose qui permet à la cellule d'exporter des substances contenues dans des vésicules membranaires ou vésicules d'exocytose.

Mécanisme

- migration de la vésicule d'exocytose vers la membrane plasmique
- fusion de la membrane vésicule avec la MP et formation d'un diaphragme (membrane hétérogène)
- rupture du diaphragme et décharge du contenu de la vésicule hors de la cellule.

Plusieurs substances sont éliminées par exocytose : salive, résidus des vacuoles digestives, insuline, zymogènes, etc.

Zymogènes : ensemble de précurseurs d'enzymes digestives sécrétées par le pancréas et déversés dans le duodénum, ce sont la trypsine, la chymotrypsine, l'élastase, les carboxypeptidases A et B.

Dans la cellule, l'exocytose se fait de **manière permanente** pour les matériaux de constitution de la membrane plasmique ou de la matrice extracellulaire, et de **manière contrôlée** pour les produits de sécrétion.

3) Effets pharmacologiques sur les échanges membranaires

Plusieurs substances ont la propriété de modifier les échanges membranaires :

- **Antibiotiques** : les antibiotiques polypeptidiques augmentent la perméabilité aux ions (Valinomycine et ions Na^+) alors que les antibiotiques de type amphotéricine B augmentent la perméabilité à l'eau et aux ions chlorures en diminuant la résistivité de la double couche lipidique.
- **Anesthésiques locaux** : modifient les zones de contact entre lipides et protéines, ce qui entraîne la perte de l'excitabilité au niveau de la membrane des cellules nerveuses.
- **Venin de serpent** : entraîne la lyse de la membrane plasmique.

- **Toxines** : bloquent les pompes Na^+/K^+ entraînant le blocage de l'ouverture des vésicules à acétylcholine. Il s'en suit une inhibition de la transmission de l'influx nerveux, une paralysie des muscles respiratoires et la mort du sujet par asphyxie.

B. Communication cellulaire

La communication cellulaire concerne la transmission cellulaire et la reconnaissance cellulaire et utilise des récepteurs cellulaires.

1. Transmission cellulaire

La transmission cellulaire permet aux cellules de s'adapter à leur environnement et de coordonner leur comportement. Elle permet des échanges d'informations (signaux) entre cellules.

Le **signal** ou message est une molécule produite par une cellule émettrice (de signalisation) et détectée par une cellule cible au moyen d'un **récepteur** protéique qui reconnaît et répond spécifiquement à la molécule signal. Les modalités de transmission cellulaire sont nombreuses ; les quatre principales sont la transmission neuronale, la transmission hormonale, la transmission par les médiateurs chimiques locaux et la transmission par les molécules de signalisation dépendant du contact.

a) Transmission neuronale

Le message ou influx nerveux (IN) est délivré très rapidement et à longue distance ex : noradrénaline qui augmente la contraction des cellules musculaires cardiaques et diminue la contraction des cellules musculaires squelettiques.

Mécanisme d'action des neurotransmetteurs

- activation du neurone par un signal ou influx nerveux (IN)
- propagation de l'IN le long de l'axone jusqu'à la terminaison nerveuse de la cellule émettrice
- libération des neurotransmetteurs au niveau des fentes synaptiques
- fixation des neurotransmetteurs sur les canaux Na^+ ligand-dépendant de la région post-synaptique (cellule cible) et ouverture de ces canaux

- variation de la différence de potentiel (ddp) membranaire de la cellule cible et ouverture des canaux Na^+ voltage-dépendant
- propagation de l'influx nerveux vers la cellule cible.

b) Transmission par les médiateurs chimiques locaux

Transmission à courte distance qui fait intervenir des récepteurs membranaires. Les molécules signales sont synthétisées par la cellule de signalisation et diffusent localement vers les cellules voisines ou vers elles-mêmes ; ex :

- l'histamine, sécrétée par les polynucléaires basophiles, contrôle l'inflammation au siège de l'infection voisin.
- les facteurs de croissance contrôlent la prolifération cellulaire au moment de la guérison d'une plaie.

c) Transmission par les molécules de signalisation dépendant du contact

La plus courte de toutes les communications cellulaires car la molécule signal est une protéine intrinsèque de la MP. De ce fait, la transmission cellulaire a lieu par contact de la MP de la cellule émettrice avec la MP de la cellule contenant le récepteur spécifique.

ex : la molécule Delta est une protéine transmembranaire signale des cellules embryonnaires. Après contact, elle empêche les cellules cibles voisines de se spécialiser de la même façon que la cellule émettrice.

d) Transmission hormonale

Communication à longue distance et très répandue qui consiste à diffuser le signal (hormone) à l'ensemble de l'organisme via le circuit sanguin. L'hormone (ex:insuline) est sécrétée par la cellule endocrine (pancréas) et reçue par le récepteur de la cellule cible (foie et muscle). Selon leur nature biochimique, on distingue deux types d'hormones :

hormones liposolubles qui diffusent à travers la membrane plasmique et se lient à leurs récepteurs intracellulaires (hyaloplasmiques ou nucléaires);

ex. : les hormones stéroïdes.

hormones hydrosolubles incapables de pénétrer dans la cellule et agissent donc par le biais de récepteurs de surface ; ex. : glucagon, insuline.

Mécanisme d'action des hormones hydrosolubles

- fixation de l'hormone (1^{er} messenger) sur son récepteur spécifique au niveau de la membrane plasmique de la cellule cible
- formation d'un second messenger intracellulaire qui peut être l'AMP cyclique (AMPc) ou le Ca^{2+}
- activation ou inhibition d'enzymes selon l'action de l'hormone
- changement de la perméabilité des canaux ioniques
- variation du comportement de la cellule (synthèses, contraction, sécrétion,...)

2) Récepteurs de surface

Plusieurs molécules signales possèdent des récepteurs spécifiques qui sont des protéines membranaires appelés récepteurs de surface. Il existe plusieurs variétés de récepteurs de surface dont les trois principaux sont :

a) Récepteur couplé à un canal ionique

La protéine membranaire du canal ionique associé possède un récepteur à un ligand donné et s'ouvre (ou se ferme) après liaison avec ce ligand ; ex. : canaux à Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Cl^- .

b) Récepteur couplé à une enzyme

Ce récepteur est constitué d'un domaine membranaire avec un site spécifique du ligand et d'un domaine intra-cytoplasmique qui a une activité enzymatique ou catalytique. La liaison du ligand sur le récepteur entraîne l'activation de son domaine intra-cytoplasmique ; ex. : récepteurs des facteurs de croissance (EGF, PGDF) couplés à l'enzyme tyrosine-kinase.

c) Récepteur couplé à une protéine G

Proéine cytosolique trimérique et extrinsèque à la membrane plasmique ; elle utilise la GTP.

Mécanisme (Réactions en cascades)

- Fixation du ligand sur son récepteur
- Activation de la protéine G par phosphorylation après dégradation de la GTP
- Activation d'une enzyme ou d'un canal ionique voisins par la protéine G
- Déclenchement de réactions cellulaires variées.

Exemples :

- la **phospholipase C** activée par la protéine G dégrade l'inositol phospholipide en inositol triphosphate (IP₃) qui ouvre le canal Ca²⁺ du RE (libération de Ca²⁺, et en diacylglycérol qui active la protéine kinase C qui catalyse des réactions de phosphorylation.
- la **rhodopsine**, photorécepteur des bâtonnets de l'œil, activée par la protéine G (appelée transducine) entraîne la fermeture des canaux Na⁺ de la membrane plasmique.

3) Reconnaissance cellulaire

Assurée par certains récepteurs de surface appelés antigènes de surface. Il peut y avoir reconnaissance entre les cellules d'un même tissu, entre les cellules du soi ou entre les hématies d'un même groupe sanguin. Les antigènes de surface peuvent être des glycoprotéines (Ag du système HLA), des glycolipides (Ag du système ABH) ou polysaccharides (Ag tissulaire).

a) Antigènes tissulaires

Polysaccharides assurant la reconnaissance entre les cellules d'un même tissu.

Expérience : après réalisation d'un mélange de cellules cartilagineuses et de cellules musculaires, les deux types cellulaires se séparent et s'agrègent.

Ce phénomène est particulièrement important pendant l'organogenèse où des cellules qui forment un même tissu ou un même organe peuvent se trouver à des

endroits très éloignés. Les Ag tissulaires favorisent le regroupement des cellules d'un même tissu puis d'un même organe.

b) Antigènes d'histocompatibilité

Constituent les antigènes du système HLA (Human Leucocyte Antigen) ou CMH (Complexe majeur d'histocompatibilité). Ce sont des glycoprotéines membranaires communes à toutes les cellules nucléées d'un individu et dont la séquence, définie par le génome, varie d'un individu à l'autre. Les antigènes d'histocompatibilité constituent une "carte d'identité" ou marqueurs de l'individu. Des ressemblances (compatibilité) entre systèmes HLA peuvent exister chez les individus de la même famille (frères, sœurs, parents, enfants). L'histocompatibilité est totale entre les jumeaux monozygotes.

Les Ag HLA permettent aux globules blancs de reconnaître le soi, du non soi et du soi altéré. L'identification des Ag HLA se fait par groupage tissulaire ou typage, qui est demandé dans le cas d'une greffe d'organes.

c) Antigènes du système ABH

Ce sont les agglutinogènes des hématies. Glycolipides membranaires qui caractérisent les groupes sanguins A, B, O. Leurs chaînes glucidiques possèdent deux parties :

- * un motif commun appelé H et comportant :

[glucose - galactose - acétyl - glucosamine- galactose - fructose]

- * une partie terminale variable selon le groupe

Groupe A : acétyl glucosamine

Groupe B : galactose

Groupe O : sans partie terminale

4) Maladies dues à l'altération des récepteurs

- Maladies auto-immunes

Les récepteurs du système HLA de certaines cellules (sanguines, articulaires, pancréatiques, etc.) peuvent être modifiés suite à une mutation ou autre, ce qui entraîne la non reconnaissance de ces cellules par les globules blancs et par conséquent la destruction de ces cellules (auto-immunité).

- **Cancérisation des cellules**

Les facteurs de croissance stimulent la croissance et la division cellulaire en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques. Si une mutation de ces récepteurs se produit, elle entraîne une activation cellulaire en permanence et par conséquent des divisions anarchiques qui caractérisent le mode de cancérisation.

C) Adhérence cellulaire

Les cellules se lient entre elles ou avec la **matrice extracellulaire** (MEC) grâce à des **molécules d'adhésion**. Le premier mécanisme d'adhésion intercellulaire se fait par les **jonctions intercellulaires** (cf. plus loin). Le deuxième mécanisme est représenté par des molécules transmembranaires d'adhésion et qui sont classées en deux types :

- molécules d'adhésion intercellulaires ou CAM (cell adhesion molecules)
- molécules d'adhésion à la matrice extracellulaire ou SAM (substrate adhesion molecules)

1) Molécules d'adhésion CAM

Molécules transmembranaires dépendantes ou non du Ca^{2+} et intervenant dans le phénomène d'adhésion cellulaire.

1.1) CAM Ca^{2+} -indépendant

Ce sont les NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) responsables de la liaison neurone/neurone et neurone/cellule musculaire squelettique.

1.2) CAM Ca^{2+} -dépendant

Comporte deux superfamilles : les **cadhérines** et les **sélectines**

a) Cadhérines

Glycoprotéines transmembranaires présentes au niveau des jonctions cellulaires ; exemples : les E-cadhérines de l'épiderme, les N-cadhérines des neurones et myocytes cardiaques et les P-cadhérines du placenta.

Application médicale : dans les cancers épithéliaux, la modification des cadhérines entraîne des métastases.

b) Sélectines

Présentes à la surface des leucocytes, des plaquettes sanguines et des cellules endothéliales des capillaires sanguins. Elles interviennent dans les phénomènes d'adhésion des cellules sanguines aux cellules endothéliales qui sont préalables à la migration des cellules sanguines vers la matrice extracellulaire (diapédèse).

2) Molécules d'adhésion SAM

Comporte la famille des intégrines et la famille des SAM-non-intégrines ou protéoglycannes.

2.1) Intégrines

Glycoprotéines transmembranaires présentes à la surface des leucocytes, plaquettes, fibroblastes, cellules endothéliales et épithéliales (pôle basal). Elles agissant comme récepteurs des molécules de la matrice extracellulaire ou de la lame basale (laminine, fibronectine ou collagène).

Pathologies liées aux intégrines

- Les cellules cancéreuses qui perdent ou modifient leurs intégrines sont sujet à des métastases
- Dans certaines thrombopathies dues à un déficit en intégrines, les plaquettes sont incapables d'adhérer au substrat environnant pour former un caillot, ce qui entraîne des saignements continus.

2.2) SAM-non-intégrines

Ce sont les protéoglycannes de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif
(cf. cours d'Histologie)

IV. Adaptations morphologiques de la membrane plasmique

Les adaptations ou différenciations morphologiques de la membrane plasmique permettent à la cellule d'effectuer de nombreuses fonctions tels que **l'augmentation de la surface d'absorption**, les **mouvements cellulaires** et la **cohésion entre cellules** voisines. Les différenciations morphologiques de la membrane plasmique tous concernent les différents côtés de la cellule : pôle apical, pôle basal et faces latéraux.

1 - Augmentation de la surface d'absorption

Effectuée par des microvillosités ou par des invaginations membranaires.

a - Microvillosités

Ce sont des évaginations digitées de la membrane plasmique apicale et qui sont de quatre types selon leur taille :

- **Microvillosités banales** : peu hautes et peu nombreuses ex. : anse de Hénelé.
- **Plateau strié** : microvillosités identiques et régulières ; ex : intestin, tube contourné proximal du rein (TCP).
- **Bordure en brosse** : microvillosités irrégulières ; ex : tube urinifère, ostéoclaste.
- **Stéréocils** : microvillosités de grande taille, en touffe ; ex : épидидyme, canal déférent.

b - Invaginations membranaires

Replis membranaires permanents de la membrane plasmique basale. Elles sont visibles au MO sous forme de striations basales et caractérisent les tissus où les échanges sont abondants ; ex. : cellules rénales.

2 - Mouvements cellulaires

Effectués par les cils vibratiles ou par les flagelles.

a - Cil vibratile

Favorise le mouvement des éléments de la lumière et sont présents au niveau du pôle apical de certaines cellules épithéliales qu'il caractérise ;
ex. : épithélium de la trachée, épithélium des trompes de Fallope.

b - Flagelle

Permet le déplacement des cellules où il se trouve ; ex. : spermatozoïde.

3 - Cohésion entre cellules voisines

Sur les faces latérales de deux cellules voisines existe un espace de 10 à 20 nm appelé **espace intermembranaire**. Il contient des protéines et des ions Ca^{2+} qui assurent la cohésion entre cellules voisines. Cette cohésion est renforcée par des interdigitations et/ou par des jonctions cellulaires.

a - Interdigitations

Système d'engrenage entre membranes des cellules adjacentes. Elles augmentent la surface d'échange et la cohésion cellulaires.

b - Jonctions intercellulaires

Zones différenciées de la membrane plasmique qui assurent l'adhésion des cellules épithéliales, entre autres. Elles sont classées selon la forme et selon l'espace intercellulaire.

* **Selon la forme** on distingue trois types :

- *Jonction macula* : tâche plus ou moins arrondie
- *Jonction Fascia* : bande discontinue, irrégulière
- *Jonction Zonula* : bande continue, de grande étendue

* **Selon l'espace intercellulaire** on distingue quatre types :

- Jonction serrée ou zonula occludens ou tight junction

Située au niveau des cellules épithéliales (sous la lumière et près du pôle basal), elle rend imperméable la couche épithéliale en empêchant le passage des substances dans l'espace intercellulaire. De nombreuses protéines renforcent cette jonction,

l'occludine, la cinguline, les protéines ZO et les molécules d'adhésion de la famille des cadhérines.

- Jonction adherens ou zonula adherens ou jonction intermédiaire

Située au niveau des cellules épithéliales au dessous de la jonction serrée, elle assure le maintien de la forme cellulaire et est constituée de trois parties : un **espace intermembranaire** avec plusieurs glycoprotéines dont les cadhérines, une **plaque dense** composée de plusieurs protéines (vinculine, myosine, caténines) et un **réseau de microfilaments d'actine** insérés à la plaque dense et ayant un rôle contractile.

Rq : les fascia adherens existent au niveau des cellules musculaires lisses.

- Jonction macula adherens ou desmosome

De forme arrondie et située sur les faces latérales des cellules épithéliales où elle assure une forte cohésion. Elle est constituée de trois parties : un **espace intercellulaire** avec plusieurs glycoprotéines, desmocolline, desmogléine et cadhérine, une **plaque dense cytoplasmique** identique à celle de la jonction intermédiaire et un **réseau de cytokératine**, tonofilaments ancrés à la plaque dense du côté du cytoplasme.

Rq : des hémidesmosomes sont observés au niveau de l'épiderme, sur la face basale des kératinocytes. Ils fixent les cellules à la lame basale. Leurs molécules d'adhésion sont des intégrines.

- Jonction communicante ou Gap jonction ou nexus ou jonction lacunaire

De forme arrondie, elle met en communication directe les cytoplasmes de deux cellules voisines grâce à un canal formé de six protéines transmembranaires appelées **connexines**. Elle permet l'échange de petites molécules, vitamines, oses, nucléosides, ions, AMPc et empêche le passage des molécules de PM élevé.

Les jonctions gap permettent aux cellules musculaires lisses de synchroniser leurs contractions au moment de l'accouchement.

On appelle **complexe de jonctions** l'ensemble constitué de deux ou plusieurs jonctions situées les unes à la suite des autres, entre deux cellules épithéliales voisines.

V. Renouvellement de la membrane plasmique

La membrane plasmique est en perpétuel renouvellement, la moitié des molécules se renouvellent entre 2 et 15 jours. L'apport de molécules est assuré par des synthèses au sein du système endomembranaire, par exocytose et par recyclage de molécules. La dégradation de la membrane plasmique est assurée par l'endocytose et par le catabolisme cellulaire.

Chapitre 3 Hyaloplasme Cytosquelette et Ribosomes

Objectifs

- Définir le hyaloplasme
- Expliquer la différence entre hyaloplasme, cytoplasme et cytosol
- Citer les différents constituants biochimiques du hyaloplasme
- Décrire les propriétés du hyaloplasme
- Citer les différents rôles physiologiques du hyaloplasme
- Expliquer chacun des rôles physiologiques du hyaloplasme
- Définir les courants cytoplasmiques
- Définir les termes : précurseur, métabolisme, catabolisme et anabolisme
- Définir les termes : protéosomes, rosettes et gouttelettes lipidiques
- Citer des cellules contenant les substances sus-citées
- Donner des exemples de substances accumulées dans le hyaloplasme
- Expliquer les rôles des protéines Hsp (heat shock proteins)
- Citer les différents constituants du cytosquelette
- Définir les microfilaments d'actine (MA)
- Décrire l'organisation des MA
- Décrire la position des MA dans la cellule
- Expliquer les rôles des MA dans la cellule
- Définir les filaments intermédiaires (FI)
- Décrire la structure et la classification des FI
- Citer des exemples de FI
- Décrire la position des FI dans la cellule
- Expliquer les rôles physiologiques des FI
- Expliquer l'intérêt des FI en médecine
- Définir les microtubules (MT)

- Décrire la nature biochimique des MT
- Expliquer l'organisation des MT
- Citer des structures contenant les MT
- Définir les termes : centriole, centrosome, axonème, cil vibratile et flagelle
- Décrire l'ultrastructure du cil et du flagelle
- Expliquer le mécanisme de vibration du cil vibratile
- Définir le ribosome
- Décrire la localisation des ribosomes dans la cellule
- Citer les différents composants du ribosome
- Citer les rôles physiologiques du ribosome
- Expliquer la biogenèse du ribosome.

cf. film "La Structure de la cellule" à la médiathèque de la Faculté.

A. Hyaloplasme

I. Définition et généralités

Le hyaloplasme ou cytosol est le **milieu homogène** du cytoplasme où baignent les inclusions inertes et les organites cellulaires. C'est aussi un lieu de réserve et du métabolisme cellulaire. (hyaloplasme : cytoplasme sans les organites).

Le hyaloplasme est séparé du noyau par la membrane nucléaire mais reste en continuité avec le nucléoplasme par des pores nucléaires. Il apparaît translucide et vide au MO. Au ME, il présente trois types d'éléments, le système endomembranaire, les mitochondries et les peroxysomes.

II. Composition biochimique

* **Eau** : 70 à 90% (exceptés les cellules osseuses et l'émail dentaire).

* **Substances plus ou moins solubles**

- ions : Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , etc.
- petites molécules : matériaux de construction (précurseurs) : oses, acides aminés, etc

* Molécules de PM élevé

Sous forme granuleuse ou fibreuse

- structures granuleuses : particules de glycogène, inclusions lipidiques, sous-unités de ribosomes dissociées, déchets métaboliques, etc.
- structures fibreuses : éléments structurés de protéines insolubles. Ce sont les microfilaments, microtubules et filaments intermédiaires du cytosquelette.

III. Propriétés

Selon la teneur en eau des cellules et selon la force de liaison des macromolécules protéiques, le cytosol peut être à l'**état gel** (visqueux) ou l'**état sol** (plus liquide). Le passage d'un état à l'autre est réversible.

Les différents constituants du cytosol sont mélangés grâce à des **courants cytoplasmiques** qui permettent le mouvement des différents constituants du cytosol. Ils sont induits par les ions et les protéines du cytosquelette et consomment de l'énergie.

IV. Activités physiologiques

Le hyaloplasme effectue de nombreux rôles tels que la réserve de substances, le métabolisme cellulaire, la production d'énergie cellulaire, la modification et l'adressage des protéines.

1. Réserve de substances

Le hyaloplasme accumule des combustibles (glucides, lipides, protéines) et des matériaux de construction (acides gras, acides aminés, oses).

- **Protéines** : sous forme de **protéosomes**, petits cylindres qui se dégradent en protéines cytosoliques.
- **Glucose** : sous forme de **rosettes** isolées (glycogène bêta) ou regroupées (glycogène alpha) ; ex. : cellules hépatiques et cellules musculaires.
- **Lipides** : sous forme de **gouttelettes** ovoïdes ou arrondies, denses aux électrons et de nombre variable selon le type cellulaire ; ex. : adipocytes.

On appelle **inclusions inertes** du cytoplasme l'ensemble de ces trois types d'éléments : gouttelettes lipidiques, grains de glycogène et protéosomes.

2. Métabolisme cellulaire

Le hyaloplasme est un carrefour de voies métaboliques (anaboliques et cataboliques).

Anabolisme : voies de synthèse des lipides, protéines, acides aminés, etc.

Catabolisme : voies de dégradation des molécules organiques (glucides, etc.)

Certaines réactions biochimiques commencent dans le cytosol et se terminent dans d'autres compartiments cellulaires ; ex. : respiration cellulaire.

3. Production d'énergie

Le cytosol peut aussi produire une certaine quantité d'énergie cellulaire (ATP) après dégradation de certains métabolites ; glycolyse par exemple.

4. Modifications des protéines

Elles sont co ou post-traductionnelles et sont très nombreuses (jusqu'à une centaine de modifications) ; ex :

- Phosphorylation et déphosphorylation des protéines catalysées respectivement par des kinases et des phosphatases.

- Acquisition des structures II, III et IV des protéines par intervention des Hsp (Heat shock proteins).

- Dépliement puis repliement de certaines protéines par les Hsp.

5. Adressage des protéines

Après synthèse des protéines dans le cytosol, certaines y restent tandis que d'autres sont adressées vers différents compartiments de la cellule (noyau, RE, mitochondries, etc.).

L'adressage des protéines vers leurs compartiments est effectué grâce à des séquences polypeptidiques spécifiques appelées **séquences d'adressage** situées en aval des protéines. Elles sont aidées dans cette fonction par des protéines

cytosoliques, les **protéines chaperonnes** dont la binding-protéine ou Bip, l'ubiquitine et les protéines Hsp (Heat shock proteins) :

- la Hsp 70 permet la translocation de protéines cytosoliques à travers les membranes mitochondriales et du réticulum endoplasmique.
- la Hsp 90 la translocation de protéines cytosoliques vers le nucléoplasme via les pores nucléaires.
- l'ubiquitine favorise l'adressage de protéines transmembranaires (récepteurs ubiquitinilés) vers les lysosomes.

Pathologie humaine de l'ubiquitine

Dans la maladie d'Alzheimer, la concentration en ubiquitine augmente dans le cytosol des neurones (excès).

Dans le lupus érythémateux disséminés, des Ac anti-ubiquitine sont détectés dans le sérum des malades (défaut).

B. Cytosquelette

I. Définition et généralités

Squelette ou charpente de la cellule, formée de protéines filamenteuses étalées dans toute la cellule et visibles **uniquement** au microscope électronique.

Selon leur diamètre, on distingue trois types de filaments du cytosquelette :

- * **Microfilaments (MF)**: 6-8 nm de diamètre
- * **Filaments intermédiaires (FI)** : 8-11 nm de diamètre
- * **Microtubules (MT)** : 20-30 nm de diamètre

II. Composition biochimique et activité

La composition biochimique a été déterminée par immunohistochimie et a révélé que les trois types de filaments protéiques du cytosquelette ont des polymères formés de plusieurs monomères protéiques : actine G, protéine fibreuse ou tubuline.

1) Microfilaments d'actine

Les plus nombreux des trois types de filaments du cytosquelette. Ils sont présents dans toutes les cellules où ils sont généralement périphériques et parfois organisés en faisceau ou en réseau.

Ils assurent la migration cellulaire, la phagocytose et la division cellulaire. Ils constituent des structures **stables et permanentes** (microvillosités, sarcomères) ou **temporaires** (anneau contractile, protrusions des cellules migratrices).

a) Organisation moléculaire

Plusieurs monomères d'actine G ou actine globulaire s'associent entre eux (en présence d'ATP et de Ca^{2+}) pour former l'actine fibrillaire ou actine F qui est une chaîne torsadée, contractile et polarisée (extrémité + de polymérisation et extrémité - de dépolymérisation).

b) Rôles physiologiques

Les microfilaments d'actine assurent des rôles variés :

- **Soutien de structures cellulaires** : microvillosités, stéréocils

Dans les microvillosités et les stéréocils, les microfilaments d'actine sont en faisceaux liés entre eux par des protéines de fasciculation (villine et fibrine) et à la membrane plasmique par la calmoduline.

- **Contraction des cellules musculaires** : en association avec des protéines motrices telles que la tropomyosine et la troponine.

- **Maintien de la forme tridimensionnelle et cortex cellulaire**

Le cortex cellulaire est une couche de microfilaments d'actine formant un réseau situé au dessous de la membrane plasmique et assurant le maintien de la forme tridimensionnelle de la cellule.

Au niveau du cortex des hématies, on rencontre plusieurs protéines liées entre elles : actine, spectrine, ankyrine, tropomyosine, tropomoduline, adducine et dématine.

- **Migration cellulaire**

Les expansions cytoplasmiques ou pseudopodes formés lors de la migration de la cellule lui permettent de ramper sur la matrice extracellulaire (mouvement amiboïde du macrophage). Des molécules d'adhésion ou SAM sont impliquées dans le mécanisme de migration cellulaire (cf. schéma cours magistral).

- **Courants cytoplasmiques et guidage des organites dans le cytosol**

Les molécules et les organites cellulaires sont guidés dans différents sens au cours de leurs déplacements intracellulaires, ce qui crée des courants cytoplasmiques. La myosine collabore avec les filaments d'actine lors de ce phénomène (cf. TD).

- **Division cellulaire** : l'anneau contractile constitué de MA assure le partage du cytoplasme au moment de la cytodierèse.

c) **Effets pharmacologiques**

- **Cytochalazine**, toxine fongique : empêche la polymérisation des MA
- **Phalloïdine** : empêche la dépolymérisation des MA.

2) **Filaments intermédiaires (FI)**

a) **Définition et généralités**

Les FI sont des protéines fibreuses stables conférant à la cellule une résistance à l'étirement mécanique, aux détergents et aux sels concentrés. Ils constituent le cytosquelette vrai de la cellule et sont présents dans la plupart des cellules.

Les MA et les MT constituent la cytomusculature de la cellule.

b) **Structure et classification**

Le monomère des FI est une protéine fibreuse de nature variable selon le type cellulaire. Elle est **allongée en bâtonnet** avec **les deux bouts** qui sont **globulaires**. Les monomères s'organisent en dimères puis en tétramères par des liaisons non covalentes. Plusieurs tétramères alternent dans l'espace et forment un filament intermédiaire avec un **aspect de cordage**.

On distingue plusieurs classes de FI selon la nature du monomère et du type cellulaire :

- filaments de kératine caractérisant les cellules épithéliales (épiderme, cheveux)
- filaments de desmine caractérisant les cellules musculaires
- filaments de vimentine des cellules mésenchymateuses du tissu conjonctif
- filaments neurogliaux : protéines fibrillaires de la névrologie qui caractérisent les cellules gliales.
- Neurofilaments dans les neurones et les axones.
- Lames nucléaires A, B, et C de la lamina nucléaire.

c) Rôles physiologiques

Les FI sont des structures stables et résistantes qui permettent à la cellule de conserver sa **forme tridimensionnelle** et une certaine **rigidité** cellulaire.

Ils forment un réseau entourant le noyau et atteignant la périphérie de la cellule. Dans le noyau, les lames nucléaires forment la lamina nucléaire et renforcent l'enveloppe nucléaire qu'elles tapissent de l'intérieur. Ils sont moins stables que les FI cytoplasmiques car ils s'organisent après la division cellulaire et se désorganisent pendant la division cellulaire.

Un tel phénomène est contrôlé par la phosphorylation et la déphosphorylation des lames par les protéines kinases. La **phosphorylation** des lames affaiblit les liaisons entre les tétramères, ce qui entraîne leur **désassemblage**. La **déphosphorylation** à la fin de la mitose permet l'**assemblage** des lames.

Application médicale

Les FI permettent de déterminer le type de cancer par immunohistochimie.

3) Microtubules (MT)

a) Définition et généralités

Petits tubes protéiques, longs et rigides ($L=20\mu\text{m}$, $\varnothing=25\text{ nm}$) assurant le maintien de la forme cellulaire et le guidage du transport intracellulaire. Ils sont plus développés dans le hyaloplasme au moment de la mitose.

Les MT sont présents dans différentes structures cellulaires :

- ♦ cils, flagelle, axone et centriole qui sont des structures **stables**
- ♦ fuseau mitotique et cytoplasme qui sont des structures **labiles**, c'est à dire capables de se désassembler et de se réassembler.

b) Organisation moléculaire

Les MT sont des hétéropolymères de tubulines α et β qui s'associent en dimères par des liaisons non covalentes. Plusieurs dimères s'associent pour former un protofilament ; environ 13 protofilaments constituent un microtubule.

L' α -tubuline alterne avec la β -tubuline tout au long du protofilament avec une α -tubuline à une extrémité (extrémité - ou pôle de dépolymérisation) et une β -tubuline à l'autre extrémité (extrémité + ou pôle de polymérisation).

En général, il y a un équilibre entre ces deux phénomènes : la moitié de tubulines est libre et l'autre moitié forme des microtubules.

c) Structures contenant les microtubules

Ce sont le centriole, centrosome, aster, cinétosome, cil vibratile et flagelle.

- **Centriole** : cylindre permanent de 9 triplets de microtubules (A,B,C) reliés par des ponts protéiques (nexines) et entourés par des protéines satellites. Dans la cellule, le centriole se trouve au niveau du cinétosome, de l'aster et du centrosome.
- **Centrosome** : centre organisateur des microtubules de la cellule, il est situé près du noyau et formé de deux centrioles orthogonaux.
- **Cinétosome ou corpuscule basal ou cinétochore** : dérivé centriolaire situé à la base du cil et du flagelle et donnant naissance à leurs cytosquelettes.

- **Aster** : structure responsable de la formation du fuseau mitotique, constitué d'un diplosome, de microtubules rayonnants et de protéines satellites qui semblent avoir un effet inducteur de la formation du fuseau mitotique.

- **Cil vibratile et flagelle** : évaginations de la membrane plasmique qui balaient le liquide à la surface cellulaire (cil) ou assurent le déplacement cellulaire (flagelle);
ex :

- les cils de la trachée contribuent au nettoyage des voies aérophores par balayage, vers la gorge, des couches de mucus ayant piégé de la poussière, des bactéries ou des virus.

- le spermatozoïde se déplace dans les voies génitales féminines grâce à son flagelle qui assure la propulsion de la cellule dans un liquide.

Ultrastructure du cil vibratile et du flagelle

Il présente trois régions distinctes :

- Cinétosome ou cinétochore ou corpuscule basal

Situé dans le cytoplasme, à la base du cil ou du flagelle. C'est un dérivé centriolaire avec 9 triplets de microtubules reliés entre eux par des ponts de nexine, et entourant un axe tubulaire avec lequel ils sont reliés par des lames rayonnantes de nature protéique. Le cinétosome présente l'aspect d'une roue de charrette en coupe transversale.

- Zone de transition

départ de l'évagination de la membrane plasmique au niveau d'une plaque basale cytoplasmique de nature protéique.

- Axonème

Il comporte 9 doublets de microtubules périphériques avec 1 doublet de microtubules centraux (9+2). Le doublet central est situé dans l'axe du cil, entouré par une gaine fibreuse et repose sur la plaque basale qui lui donne naissance. Les doublets périphériques (A et B) sont en continuité avec les microtubules A et B du

cinétosome, le C s'arrête au niveau de la zone de transition. Ils sont reliés à la gaine centrale par des fibres rayonnantes de nature protéique et reliés entre eux par des ponts de nexine. Sur un des microtubules de chaque doublet, se présentent deux rangées de protéines (dynéine ciliaire) en forme de crochet.

Mécanisme de vibration

Le cil vibre en présence de l'ATP. Les molécules de dynéine ciliaire d'un doublet s'accrochent au doublet suivant de microtubules et glissent vers sa base, ceci entraîne l'incurvation du cil et l'hydrolyse de l'ATP. La dynéine se détache par la suite et le cil se redresse avec un mouvement de retour passif.

Applications médicales

- Le **syndrome de Kartagener** a pour cause l'**absence de bras de dynéine** au niveau des cils et se manifeste par une dilatation des bronches.
- L'**asténospermie** est due à l'**absence de ponts radiaires** dans les flagelles des spermatozoïdes, elle entraîne la stérilité masculine.

d) Rôles physiologiques

Les MT assurent des rôles variés : courants cytoplasmiques, maintien de la forme, division cellulaire, diapédèse et déplacements cellulaires.

- **Courants cytoplasmiques** : ont lieu grâce à la coopération entre MA et MT. Des protéines motrices (kinésine et dynéine cytoplasmique) sont fixées aux MT et permettent le déplacement des composants et organites cellulaires vers une direction donnée.

La dynéine intervient dans le positionnement des organites de la périphérie vers le centre de la cellule alors que la kinésine permet l'étalement des organites dans toute la cellule du centre vers la membrane plasmique ;

ex : transit des neurovésicules du péricaryon vers le cône de croissance du neurone.

- **Déplacements cellulaires** : se font avec la concurrence des MA pour soutenir les pseudopodes des cellules migratrices.
- **Diapédèse** : infiltration des cellules sanguines à travers la paroi des vaisseaux sanguins par intervention des MA et des MT qui permettent aux cellules d'adopter des formes plus ou moins rétrécies.
- **Maintien de la forme tridimensionnelle** de la cellule : en coopération avec les microfilaments d'actine et les filaments intermédiaires.
- **Division cellulaire** : formation du fuseau mitotique ou de division ou achromatique.

e) Effets pharmacologiques

- **Colchicine** : antimitotique qui se lie à la tubuline libre et **empêche** sa polymérisation.

De nombreux autres alcaloïdes utilisés aussi en chimiothérapie (vinblastine, vincristine, podophylline) sont aussi des antimitotiques

- **Taxol** (anticancéreux, extrait de l'If) **empêche la dépolymérisation** des microtubules du fuseau mitotique et entraîne leur **inactivation**.

C. Ribosomes

I. Définition

Organite cytoplasmique globulaire non membranaire, constitué de deux sous-unités (grande et petite) associées en présence du Mg^{2+} .

Les ribosomes sont présents chez les procaryotes (70 S) et chez les eucaryotes (80 S).

II. Localisation

- dans les mitochondries : plus petits que les ribosomes cytosoliques
- dans le cytoplasme : libres ou liés à l'ARNm formant des polysomes
- liés à l'enveloppe nucléaire ou au réticulum endoplasmique.

III. Composition biochimique

Le ribosome est constitué de **ribonucléoprotéines** constituées de protéines et d'ARNr en quantités égales.

Les protéines sont variées (50 types), repliées, internes ou périphériques et ont un rôle structural ou enzymatique.

Les ARNr sont de trois types au niveau de la grande sous-unité (28S- 5,8S et 5S) et d'un seul type au niveau de la petite sous-unité (18S).

Le ribosome possède deux loges, la **loge P** ou site peptidyle et la **loge A** ou site amino-acyle.

IV. Rôles physiologiques

Le ribosome participe à la synthèse des protéines en participant à la traduction de l'ARNm en protéine (voir chapitre biosynthèse des protéines).

V. Biogenèse

A lieu dans le nucléole où un fragment d'ADN appelé ADNr ou organisateur nucléolaire sera transcrit en ARNr 45S. Ce dernier sera par la suite clivé en ARNr 28S, 18S et 5,8S. L'ARNr 5S qui fait partie des ARNr ribosomiens provient du chromosome n°1. Les protéines ribosomiques proviennent du cytoplasme et l'assemblage du pré-ribosome aura lieu, comme suit, chez les eucaryotes :

* grande sous-unité : ARNr (28S-5,8S et 5S) + 40 protéines

* petite sous-unité : ARNr 18S + 30 protéines.

Les deux sous-unités ribosomiques quittent le noyau par les pores et vont dans le cytoplasme où ils subissent le processus de maturation et deviennent des ribosomes fonctionnels.

Chapitre 4 LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

Objectifs

- Définir le système endomembranaire (SE)
- Citer les différents constituants du SE
- Définir le réticulum endoplasmique (RE)
- Décrire les deux types de RE
- Décrire la composition biochimique des membranes et cavités du RE
- Expliquer les différents rôles physiologiques du RE
- Citer des applications médicales liées aux rôles du RE
- Expliquer le mécanisme de transfert des protéines vers le REG
- Expliquer le mécanisme de synthèse des hormones stéroïdes
- Décrire la biogenèse du RE
- Définir l'appareil de Golgi (AG)
- Définir les termes : dictyosome, vésicule de transition, vésicule de maturation, vacuole de concentration et tubes périphériques
- Citer les éléments constituant l'appareil de Golgi
- Décrire l'orientation de l'appareil de Golgi
- Définir les faces cis et trans de l'appareil de Golgi
- Définir les termes CGN et TGN
- Décrire la composition biochimique des différents éléments de l'AG : saccules, membranes, cavités et vésicules
- Expliquer chacun des rôles physiologiques de l'appareil de Golgi

- Décrire la biogenèse de l'appareil de Golgi
- Définir le lysosome
- Donner la différence entre lysosomes I et II
- Décrire la nature biochimique des membranes et cavités du lysosome
- Expliquer les rôles physiologiques du lysosome
- Définir les termes : autophagie et hétérophagie
- Expliquer le mécanisme et l'intérêt de l'autophagie
- Expliquer le mécanisme et l'intérêt de l'hétérophagie
- Expliquer le rôle des lysosomes dans les mécanismes suivants : nutrition cellulaire, défense cellulaire et recyclage de molécules
- Citer des cellules spécialisées dans l'hétérophagie
- Retracer la biogenèse des lysosomes
- Citer des pathologies liées aux lysosomes
- Expliquer l'intervention des lysosomes dans des pathologies
- Citer des substances pharmacologiques ayant un effet sur les lysosomes
- Décrire la biogenèse des lysosomes.

cf. film "La Structure de la cellule" à la médiathèque de la Faculté.

LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE (SE)

Le SE est un ensemble d'organites membranaires qui communiquent entre eux par l'intermédiaire de vésicules et de canalicules. Il comporte l'enveloppe nucléaire (EN), le réticulum endoplasmique (RE), l'appareil de Golgi (AG), les lysosomes et la membrane plasmique (MP).

Le système endomembranaire comporte de ce fait tous les compartiments intracellulaires limités par une membrane, excepté les mitochondries et les peroxysomes.

I. Le réticulum endoplasmique

A. Définition et généralités

Le RE est un réseau de canalicules plus ou moins dilatés et communiquant entre eux ; il se présente sous deux formes qui coexistent dans la même cellule, REG et REL :

- **Réticulum endoplasmique rugueux (REG)** : ensemble de cavités aplaties et présentant des ribosomes sur la face hyaloplasmique. Ces ribosomes assurent la synthèse de protéines transférées dans les cavités du REG. Il est abondant dans les cellules sécrétrices de protéines ; ex. : cellules exocrines du pancréas.

- **Réticulum endoplasmique lisse (REL)** : ensemble de cavités tubulaires avec des membranes régulières sans ribosomes. Il assure la synthèse des lipides et des hormones stéroïdes ainsi que le stockage du calcium. Il est abondant dans les cellules musculaires, les cellules hépatiques, les cellules lutéales de l'ovaire et les cellules de Leydig des testicules.

Des vésicules se détachent du RE et fusionnent pour former l'appareil de Golgi. A certains endroits, des ponts relient l'EN au RE.

Le RE est développé chez l'animal bien nourri et peu développé chez celui qui jeûne.

B. Composition biochimique

Membranes : semblables à la membrane plasmique (membrane unité) avec quelques différences (peu de cholestérol, peu d'oligosaccharides et l'épaisseur de 5 ou 6 nm).

Ces membranes présentent deux faces, une face luminale en contact avec les cavités du RE et une face hyaloplasmique en contact avec le hyaloplasme et qui porte parfois des ribosomes. Les oligosaccharides membranaires se trouvent du côté luminal du RE.

Cavités : comportent une solution aqueuse riche en protéines, en lipides, en hormones stéroïdes et en ions (calcium surtout).

C. Rôles physiologiques

Le RE est le siège de réactions biochimiques variées : **synthèse** de molécules, **adressage et maturation** des protéines, **transport** de molécules et réactions de **détoxification**.

1) Synthèse de lipides et d'hormones stéroïdes

La membrane du RE, riche en enzymes, intervient dans l'élongation des acides gras et dans la synthèse des phospholipides membranaires et d'hormones stéroïdes.

1.1) Synthèse de phospholipides

A lieu au niveau de la face cytosolique de la membrane du REL où des enzymes captent les précurseurs du cytosol et les insèrent progressivement dans la membrane du RE (acide gras, glycérol-phosphate puis l'alcool aminé sérine) où ils s'assemblent en phospholipides. Ces derniers restent dans la membrane du RE ou s'en arrachent à l'aide d'une protéine cytosolique transporteuse pour se fixer dans la membrane des mitochondries ou des peroxysomes.

1.2) Synthèse d'hormones stéroïdes

œstrogènes, testostérone, progestérone, cortisol et aldostérone.

Mécanisme

-Transformation, dans les mitochondries, du cholestérol en pregnénolone grâce au cytochrome P450 (enzyme transmembranaire)

-Transport du pregnénolone vers le REL où il sera hydroxylé par le cytochrome P450 du REL

-Synthèse de certaines hormones stéroïdes : œstrogènes, testostérone, progestérone ou métabolites intermédiaires du cortisol et de l'aldostérone qui vont terminer leur synthèse dans les mitochondries.

2) Adressage des protéines

Les protéines destinées à l'export débutent leur synthèse dans le cytosol, elles sont ensuite adressées dans le REG puis dans l'appareil de Golgi puis dans les vésicules

d'exocytose. Ces protéines sont munies d'une séquence d'adressage (de 15 à 20 acides aminés hydrophobes) située à l'extrémité N terminale de la protéine et codée par des codons situés en amont de l'ARNm de la protéine.

Lors du transfert des protéines vers le REG, ce sont les protéines chaperonnes comme la SRP (particule de reconnaissance du signal) qui assurent cette fonction. La SRP est une ribonucléoprotéine avec un ARN 7S et plusieurs polypeptides ayant une activité GTPasique.

Mécanisme

- Synthèse de la séquence d'adressage par traduction de l'ARNm
- Reconnaissance de cette séquence d'adressage par la SRP
- Fixation du complexe SRP-Séquence d'adressage sur la membrane du RE au niveau du récepteur de la SRP
- ouverture d'un tunnel dans la membrane du REG
- Rapprochement du ribosome, en synthèse protéique, de la membrane du RE
- Fixation du ribosome sur son récepteur au niveau de la membrane du REG
- Transfert de la protéine en élongation vers la lumière du REG *via* les protéines du tunnel
- Séparation de la séquence d'adressage et de la protéine synthétisée par des peptidases
- Dégradation de la séquence d'adressage par des protéases.

NB :

- le ribosome se déplace sur l'ARNm et le tunnel suit son déplacement grâce à la fluidité membranaire.
- le ribosome se fixe à l'extrémité 5' de l'ARNm.
- à l'extrémité 3' de l'ARNm se trouve un site d'attache (AAAA) de l'ARNm à la membrane du REG sur un récepteur spécifique (protéine transmembranaire).

3) Maturation des protéines

La N-glycosylation des protéines est la seule réaction de maturation subit par les protéines dans le REG. Elle a lieu dans sa lumière et consiste à fixer quelques sucres sur l'extrémité N-terminale de la protéine. L'enzyme responsable est la glycosyl-transférase. Des lipides du RE peuvent aussi être glycosylés.

3) Transport de molécules

Système de drainage où les cavités du RE servent de voies de cheminement vers l'AG, des produits élaborés ou absorbés par la cellule.

Le Ca^{2+} est stocké dans toutes les cellules au sein de vésicules ou citernes du REL. Dans les cellules musculaires où le Ca^{2+} est indispensable à la contraction, le REL est très développé (Réticulum sarcoplasmique). Le stockage et la libération du calcium dans le REL fait intervenir l'ATPase- Ca^{2+} , les canaux calciques et des perméases.

5) Détoxification

A lieu dans le REL des hépatocytes, des cellules rénales, pulmonaires et intestinales. Les produits toxiques (drogues, médicaments ou métabolites toxiques du cytosol) s'insèrent dans la bicouche lipidique de la membrane du REL où ils sont hydroxylés par le cytochrome P450. Ils deviennent hydrophiles et sont donc transloqués dans la lumière du REL où ils sont ensuite conjugués à d'autres composés, comme l'acide glucoronique et deviennent neutres. Les drogues ainsi solubilisées et neutralisées sont ensuite véhiculées par le flux membranaire (bourgeonnement de vésicules) et passent par exocytose dans la bile ou dans les urines.

Application médicale

- Après intoxication au phénobarbital, la surface générale du REL double ou triple et la quantité d'enzymes P450 de sa membrane augmente.
- Parfois, des molécules plus toxiques et même cancérigènes peuvent apparaître après hydroxylation par le cytochrome P450.

D.Biogenèse

Le RE est en perpétuel renouvellement :

- sa dégradation est assurée par le bourgeonnement de vésicules qui fusionnent pour constituer l'AG.
- sa reconstitution est assurée par la fusion de vésicules provenant de l'enveloppe nucléaire ou à partir de molécules de synthèse (protéines, lipides, cholestérol, etc.).

II. Appareil de Golgi (1898)

A. Définition et généralités

Réseau formé par un ensemble de dictyosomes (20/cellule environ) qui communiquent entre eux par des tubes périphériques.

Le dictyosome est une formation en croissant, constituée de plusieurs saccules (4 à 7) empilés comme des soucoupes. Ces saccules se forment par fusion de **vésicules de transition** bourgeonnant du RE voisin. Les dictyosomes laissent bourgeonner par leur face la plus concave des **vésicules de sécrétion** ou de maturation et par leurs bords dilatés des **vacuoles de concentration**.

L'AG est situé près du noyau. Il est polarisé et présente trois régions fonctionnellement différentes sur un même dictyosome :

- Face cis ou CGN (cis golgi network) : en rapport avec le RE, face d'entrée convexe où prennent naissance les vésicules de transition
- Région médiane : située au centre entre le CGN et le TGN
- Face trans ou TGN (trans golgi network) : en rapport avec la membrane plasmique, face de sortie concave où prennent naissance les vésicules de maturation.

L'AG assure la maturation des protéines et des lipides. Il est développé chez les cellules sécrétrices et moins développé chez les cellules peu actives ou vieillissantes.

B. Composition biochimique

1) Membranes

Comparables à la membrane plasmique sur la face trans et à la membrane du RE sur la face cis.

Elles comportent des lipides en double couche, des protéines structurales et enzymatiques (phosphatases, hydrolases, glycosyltransférases, etc.) et aussi des glucides qui se trouvent du côté luminal de l'appareil de Golgi.

L'épaisseur de la membrane est de 5 ou 6 nm sur la face cis (\approx membrane du RE) car moins riche en glucides et de 6 à 7,5 nm sur la face trans (\approx membrane plasmique).

2) Cavités des saccules

Leur contenu est variable selon la région, elles contiennent généralement des protéines et des lipides matures ou en cours de maturation, des polysaccharides, des enzymes, etc. Chaque saccule comporte des enzymes qui lui sont propres, ce qui lui permet d'assurer des réactions de maturation spécifiques et d'avoir un contenu spécifique.

3) Vésicules

Les vésicules de transition renferment des protéines ou lipides provenant du RE. Les vésicules de maturation renferment des protéines et lipides matures provenant des saccules.

C. Rôles physiologiques

L'AG assure la **maturation et le transport** des molécules en provenance du RE et participe de ce fait au **recyclage de la membrane plasmique**.

1) Maturation des molécules

Sont nombreuses et consistent à fixer une molécule (sucre, sulfate, phosphate ou autres) sur une protéine ou sur un lipide ;

Ex : O-glycosylation des protéines, phosphorylation des protéines et sulfatation des protéines.

a) O-glycosylation des protéines

Consiste à fixer un sucre sur l'**oxygène** porté par le radical d'un acide aminé de la protéine. Cette réaction est catalysée par la O-glycosyl-transférase qui se trouve dans la membrane des saccules golgiens **cis** et **médians**.

Les protéines très glycosylées sont appelées protéoglycannes ;

ex. : glycosaminoglycannes du cell-coat et de la matrice extracellulaire (cf. cours d'Histologie).

Application médicale : l'AZT, agent antiviral contre le HIV bloque la N et la O-glycosylation des protéines virales dans le RE et dans l'AG de la cellule hôte.

b) Phosphorylation de molécules

Consiste à fixer un ou plusieurs phosphates sur une protéine, un lipide ou une glycoprotéine. Cette réaction est catalysée par la phospho-transférase. Elle a lieu dans les saccules **trans** du golgi ;

ex : enzymes lysosomiales.

c) Sulfatation de molécules

Consiste à fixer un ou plusieurs sulfates sur une protéine, un lipide ou une glycoprotéine. Cette réaction est catalysée par la sulfono-transférase qui se trouve dans la membrane des saccules **trans**.

NB : d'autres réactions de modifications peuvent siéger dans les **vésicules de maturation**, c'est le cas de la protéolyse dans les grains de sécrétion et qui permet la transformation de pro-protéines en protéines par élimination d'un fragment de la protéine ; ex. : pro-insuline (inactive) en insuline (active).

2) Transport de molécules

Il est précédé par le tri et l'adressage des molécules chacune vers sa destinée. Le tri se fait entre les molécules des lysosomes, les vésicules de constitution et les vésicules de sécrétion. Il a lieu au niveau de la face de maturation de l'AG où des protéines membranaires spécifiques participent au tri .

Le transport de molécules d'un organite à l'autre du SE permet de créer un flux membranaire du RE vers la MP en passant par l'AG.

3) Recyclage de la membrane plasmique

Se fait selon deux processus :

Exocytose des vésicules de maturation au niveau de la MP grâce au flux membranaire

Recyclage des glycoprotéines (GP) de la MP selon le mécanisme suivant :

- internalisation par l'AG de glycoprotéines usées de la membrane plasmique
- nouvelles glycosylations de ces glycoprotéines dans l'AG
- bourgeonnement de vésicules de sécrétion avec les glycoprotéines néo-glycosylées
- Réinsertion de ces vésicules dans la membrane plasmique.

D) Biogenèse

L'AG est en perpétuel renouvellement :

- il prend **naissance** à partir du RE qui bourgeonne des vésicules de transition qui fusionnent pour former les saccules golgiens (CGN)
- il **se dégrade** par bourgeonnement de vésicules de maturation qui naissent à partir de sa face de maturation (TGN).

III. Lysosomes

A . Définition

Vésicules sphériques et membranaires, contenant des enzymes lytiques (40 types environ). Elles sont absentes chez les hématies.

Les enzymes lytiques sont des hydrolases acides (pH 3 à 5) qui dégradent les substances organiques.

Il existe deux types de lysosomes :

- **lysosome I** : petite taille et aspect homogène, renferment uniquement enzymes lytiques
- **lysosome II** : grande taille et aspect hétérogène, renferment enzymes lytiques et les substances en cours de dégradation.

B. Composition biochimique

1) membranes

Semblables à la membrane plasmique, d'épaisseur 7,5 nm. Le Cell coat se trouve vers la cavité lysosomiale. La membrane du lysosome est fortement glycosylée, ce qui lui permet de résister aux attaques de ses propres enzymes lytiques.

Ces membranes effectuent des échanges avec le hyaloplasme ; ex :

- des protons H^+ pénètrent dans le lysosome par l'ATPase H^+ pour maintenir un pH acide
- certains produits de dégradation passent des lysosomes vers le cytoplasme grâce à des perméases.

2) Cavités

Renferment des enzymes lytiques ou hydrolases acides

ex. : phosphatases, lipases, protéases, sulfatases, ribonucléases, osidases, etc.

C . Rôles physiologiques

Les lysosomes constituent l'**appareil digestif** de la cellule. Les substances digérées peuvent être d'origine endogènes, il s'agit d'**autophagie** ou d'origine exogène en cas d'**hétérophagie**.

1. Autophagie

Consiste à digérer des substances endogènes par la cellule. Toutes les cellules assurent l'autophagie.

Mécanisme

- capture de substances du cytosol par le lysosome I à l'aide de perméases pour les molécules et des citernes du REL pour les organites
- formation du lysosome II ou **phagolysosome**
- digestion des substances captées par les enzymes lytiques
- passage de certains produits de dégradation vers le cytoplasme par perméases
- élimination des déchets par exocytose ou formation de corps résiduels dans la cellule ; ex : grains de lipofuschine sont les corps résiduels des cellules nerveuses.

Intérêt de l'autophagie

- destruction des vieux organites et des vésicules de sécrétion en trop ou défectueuses. Ainsi, après vieillissement, les molécules des membranes, du cytosol et des organites pénètrent dans les lysosomes. Elles subissent une dégradation en métabolites élémentaires qui ressortent dans le cytosol.
- auto-destruction des cellules par apoptose (cf. chapitre 6).
- utilisation des réserves cellulaires en cas de jeûne
- destruction de certains organes au cours de l'embryogenèse ; ex. : palmes des doigts et mésonephros ou rein primitif chez l'humain.

2. Hétérophagie

Consiste à digérer des substances exogènes par la cellule. De nombreuses cellules assurent l'hétérophagie, macrophages, granulocytes, histiocytes du poumon, ostéoclastes, cellules de Küpffer, entre autres.

Mécanisme

- internalisation des substances exogènes par endocytose et formation d'un **phagosome**

- fusion du phagosome avec un lysosome I donnant un lysosome II ou **phagolysosome**
- digestion des substances exogènes par les enzymes lytiques du phagolysosome
- passage des métabolites élémentaires vers le cytoplasme grâce à des perméases
- exocytose des déchets ou formation de corps résiduels.

Rq : dans certains cas, les hydrolases acides sont sécrétées par exocytose dans le milieu extra-cellulaire ; ex :

- lorsque la taille de la substance exogène est très volumineuse, les hydrolases seront libérées par les **phagocytes**. Ce qui permet de réduire la taille des substances avant leur phagocytose.
- les **ostéoclastes** (macrophages de l'os) détruisent localement la matrice osseuse au cours du processus de renouvellement de l'os en libérant les hydrolases acides qui digèrent la matrice minéralisée de l'os.

Intérêt de l'hétérophagie

- défense de l'organisme contre les bactéries, les virus ou la fumée du tabac
- pénétration de l'ovule par le spermatozoïde : l'**acrosome**, une grande vésicule qui coiffe le noyau du spermatozoïde, provient de la fusion de plusieurs lysosomes et permet au spermatozoïde de traverser les enveloppes de l'ovule par libération d'enzymes lytiques.

D) Affections lysosomiales

1) Accumulation des corps résiduels

Les lysosomes âgés ont une activité enzymatique diminuée et stockent de ce fait les restes non hydrolysables, ce qui constitue des corps résiduels. Le nombre de corps résiduels augmente avec l'âge des cellules. Dans les cellules non renouvelées comme les neurones, le nombre des grains de lipofuschine constitue un indice du vieillissement du neurone.

2) Maladies métaboliques

L'absence ou l'anomalie fonctionnelle de certaines hydrolases entraîne l'accumulation des molécules spécifiques non hydrolysées dans le lysosome II. L'absence d'enzymes lysosomiaux peut être d'origine congénitale ou due à un défaut d'adressage des hydrolases vers les lysosomes et qui est lié à une anomalie des réactions de modification dans l'appareil de Golgi.

En s'accumulant dans la cellule, ces molécules non digérées perturbent le métabolisme des cellules neurologiques et/ou viscérales qui les abritent. Ces affections entraînent un retard du développement psychomoteur de l'enfant et sont même morbides ; ex :

- **Maladies viscérales** : maladie de Fabry (foie, peau) et maladie de Niemann Pick B (foie, poumon)

- **Maladies viscérales et neurologiques**: maladie de Gaucher 2 et 3 (cerveau, rate, os)

- **Maladies neurologiques pures** : sphingolipidoses avec accumulation de sphingolipides et gangliosidoses ou maladie de Tay-Sachs avec accumulation de gangliosides.

3) Absence de perméases lysosomales

Entraîne l'accumulation des métabolites produits après hydrolyse dans des lysosomes

4) Blockage de l'ATPase- H^+ des lysosomes

Entraîne la non acidification du contenu lysosomal et donc sa non dégradation. Le blockage se fait par des agents pathogènes ou par certains médicaments comme la quinine.

5) Maladies pulmonaires des mineurs de fond

Des particules minérales (fibres d'amiante, silice, zinc, étain) sont inhalées dans les poumons des mineurs de fond. Elles sont phagocytées par les macrophages des

alvéoles pulmonaires. Leur membrane lysosomiale se rompt et libère dans le cytosol des hydrolases acides qui détruisent aussi bien les macrophages que le milieu environnant (alvéoles). C'est la cause de l'insuffisance respiratoire observée au cours de l'asbestiose (inhalation de fibres d'amiantes) et de la silicose (inhalation de particules de silice).

6) Goutte

Suite à un trouble du métabolisme des purines, il y a production de l'acide urique qui cristallise. Il sera internalisé par le macrophage où il entraîne la rupture des lysosomes et la libération des hydrolases acides. Ces derniers détruisent le liquide synovial et entraînent l'inflammation et des douleurs articulaires qui sont les signes cliniques de la goutte.

E) Effets pharmacologiques sur les lysosomes

- la **prise prolongée** de nombreux médicaments **fragilise** la membrane des lysosomes et entraîne leur rupture.
- l'**hypervitaminose A** entraîne la **rupture** des lysosomes et la digestion de la trame osseuse, ceci entraîne des fractures spontanées plus fréquentes.
- les **corticoïdes** (anti-inflammatoires) **renforcent** une membrane fragilisée des lysosomes, ce qui arrête la libération des hydrolases dans le milieu et donc l'inflammation.

F) Biogenèse

- La **naissance** des lysosomes se fait par bourgeonnement de vésicules, elle est soit : d'origine golgienne :

Réticulum endoplasmique granuleux => Appareil de Golgi => Lysosome

d'origine REL :

Réticulum endoplasmique granuleux => Réticulum endoplasmique lisse => lysosome.

- Leur **dégradation** a lieu par exocytose.

Chapitre 5 mitochondries ET PEROXYSOMES

Objectifs

- Définir les termes : mitochondrie et chondriome
- Décrire la composition biochimique de la : membrane externe, membrane interne, espace intermembranaire et matrice mitochondriale
- Définir les termes : particules sphériques élémentaires, co-enzymes, cytochromes et génome mitochondrial
- Expliquer les différents rôles physiologiques de la mitochondrie
- Expliquer chacune des étapes de la respiration cellulaire
- Définir les termes : cycle de Krebs, chaîne respiratoire, phosphorylation oxydative, ATPsynthétase et flux protonique
- Décrire la biogenèse des mitochondries
- Définir les peroxysomes
- Définir la composition biochimique des membranes et cavités peroxysomiales
- Expliquer les différents rôles des peroxysomes
- Définir, en donnant des exemples, les agents proliférateurs des peroxysomes
- Citer, en expliquant, les différentes affections peroxysomiales
- Décrire la biogenèse des peroxysomes.

cf. film "La Structure de la cellule" à la médiathèque de la Faculté.

A) Mitochondries

I) Définition et généralités

Ce sont des organites membranaires creux, en bâtonnets ou arrondis et constitués d'une matrice entourée par une double membrane. Elles ont pour fonction principale de produire sous forme d'ATP la majeure partie de l'énergie cellulaire (respiration cellulaire).

Elles ne font pas partie du système endomembranaire et sont visibles au MO après coloration élective par le vert Janus.

Elles sont présentes dans toutes les cellules eucaryotes aérobies où elles sont dispersées dans le cytoplasme ou groupées dans les régions où le besoin en énergie est important ; ex. : bâtonnets de Heidenhain, cellules musculaires cardiaques, pièce intermédiaire du spermatozoïde.

Leur nombre varie selon l'activité cellulaire (15000 dans l'hépatocyte).

On appelle **chondriome** l'ensemble des mitochondries de la cellule.

II) Composition biochimique

- Membranes

La mitochondrie est entourée de deux membranes, l'une externe et l'autre interne, qui sont séparées par l'espace intermembranaire.

Membrane externe

Semblable à la MP avec 40% de lipides et 60% de protéines (porines, perméases). Elle est **perméable** et d'une épaisseur de 6 nm, du fait de l'absence des particules sphériques élémentaires (PSE).

Membrane interne

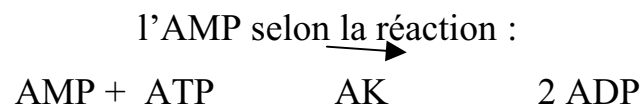
Semblable à la MP avec 20% de lipides et 80% de protéines dont de nombreuses enzymes (enzymes de la chaîne respiratoire, transporteurs d'hydrogène, ATP synthétase, transporteurs d'électrons). Sa **perméabilité** est **limitée** et son épaisseur est de 8 nm du fait de la présence des crêtes et des PSE.

ATPosome ou Particule sphérique élémentaire (PSE)

Particule composée d'une base, d'une tige et d'une tête sphérique comportant l'ATP synthétase. C'est une protéine membranaire avec plusieurs petites sous-unités.

- Espace intermembranaire

Espace large de 10 nm, de même composition biochimique que le cytosol (membrane externe perméable). Il renferme des ions, des protons et des enzymes comme par exemple l'adénylkinase (AK) qui assure le recyclage de



- Matrice

Constituée d'une substance fondamentale riche en métabolites et en enzymes. Elles renferment des granules variés, des ribosomes plus petit que ceux du hyaloplasme et l'ADN ou génome mitochondrial.

Exemples de substances : eau, sels minéraux, ATP, ADP, co-enzymes, cytochromes, nucléotides, nucléosides, ARN, acide pyruvique, acide gras, acide aminé, O₂ et CO₂, protéines HSp70, facteurs cytosoliques comme le MSF (Mitochondrial Stimulating Factor) et le NEM (N-éthylmaléimide).

Toutes ces substances proviennent du cytosol, leur transfert dans la matrice se fait au niveau de zones d'accolement des deux membranes mitochondriales qui comportent des canaux de nature protéique ou porines.

Co enzyme : molécule qui se fixe à l'enzyme et l'active ; ex : vitamines

Cytochrome : protéine complexe dont la partie prosthétique appelée hème contient un atome de fer ferrique (Fe³⁺) qui passe à l'état ferreux (Fe²⁺) quand il accepte un électron. On dénombre 5 types de cytochromes : cytochrome a, cytochrome ac, cytochrome b, cytochrome c et cytochrome c₁.

Génome mitochondrial : ADN circulaire de petite taille (15000 PB) avec 5 à 10 copies par mitochondrie. Il est sous le contrôle du génome nucléaire et est transmis par la mère chez l'humain. Des pertes de fragments ou mutations dans l'ADN

mitochondrial entraîne des maladies neuromusculaires. Le code génétique de l'ADN mitochondrial est différent du code génétique universel ; ex : UGA est un codon stop dans le code universel et un codon du tryptophane dans le code mitochondrial.

III) Rôles physiologiques

Les mitochondries assurent la **respiration cellulaire** comme fonction principale ainsi que de nombreuses autres fonctions comme la **synthèse d'hormones stéroïdes**, la **synthèse et dégradation des acides gras**, l'**accumulation de substances** et la **synthèse de protéines mitochondriales**.

1. Respiration cellulaire

Des combustibles (glucides, lipides, protides) se dégradent en libérant de l'ATP. La réaction a lieu en plusieurs étapes entre le cytosol et la mitochondrie

- Dans le cytosol

Les glucides subissent la glycolyse et libèrent le **pyruvate**. Les protides se dégradent d'abord en acides aminés dont le catabolisme produit également le pyruvate. Les lipides subissent la lipolyse et libèrent les **acides gras**.

- Dans la matrice mitochondriale

Acides gras et pyruvate entrent par des porines ou par des perméases et seront transformées en acétyl CoA avec production de NADH et de CO₂ pour le pyruvate et de NADH et FADH₂ pour les acides gras. L'acétyl CoA entre ensuite dans le cycle de l'acide citrique ou **cycle de Krebs** qui est une succession d'oxydations produisant le NADH, FADH₂, GTP, CO₂, H₂O avec extraction de protons H⁺ et d'électrons de haute énergie.

- Dans la membrane interne

Les électrons de haute énergie libérée par le cycle de Krebs sont transférés (réactions d'oxydo-réduction) à l'oxygène (accepteur final) après transfert au

niveau des complexes enzymatiques de la **chaîne respiratoire**. Ce qui libère une molécule d'eau.

Lors du transfert des électrons au niveau de la chaîne respiratoire, les protons H^+ sont en parallèle exportés de la matrice vers l'espace intermembranaire en utilisant l'énergie produite par les réactions d'oxydo-réduction. Ceci crée une **différence de potentiel de protons (ddp)** entre l'espace intermembranaire et la matrice.

Complexe enzymatique : molécule volumineuse renfermant une atome métallique comme le fer, cuivre, fer ou soufre ;

ex : NADH, $FADH_2$, cytochrome b-c₁, cytochrome oxydase.

- Dans les particules sphériques élémentaires

Le retour des protons H^+ vers la matrice se fait à travers un canal créé au niveau des PSE. Ceci génère un **flux de protons** à travers les PSE activant ainsi l'ATP-synthétase de la sphère des PSE qui va catalyser la phosphorylation oxydative de l'ADP en ATP en utilisant l'énergie du flux protonique.

Phosphorylation oxydative : $ADP + P_i + E \xrightarrow{\text{ATP synthétase}} ATP$

2. Synthèse d'hormones stéroïdes

Ce sont le cortisol et l'aldostérone qui sont synthétisés dans les mitochondries.

Mécanisme

- Transformation du cholestérol en prégnénolone par le cytochrome P450 mitochondrial
- Transfert du prégnénolone vers le RE où les cytochromes P450 du RE le transforment, entre autres, en métabolites intermédiaires (MI)
- Transfert des MI vers la mitochondrie pour être transformés en cortisol ou en aldostérone par d'autres cytochromes P450 mitochondriaux (différents de ceux qui ont transformé le cholestérol en prégnolone)

3. Synthèse et dégradation des acides gras

Dégradation : par β -oxydation ou hélice de Lynen qui consiste à enlever, deux à deux, les carbones de la chaîne d'acide gras jusqu'à obtenir un radical acétyl final à deux carbones.

Synthèse : suit le chemin inverse de la β -oxydation.

4. Accumulation de substances

A lieu dans la matrice :

- **ions** : Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , K^+ , Na^+ , etc.
- **petites molécules** : acides aminés, acides gras
- **grosses molécules** : combustibles.

5. Biosynthèse des protéines mitochondriales

Se fait en coopération avec le cytoplasme et dans le but de participer au renouvellement des protéines de la chaîne respiratoire. En effet, 95% des protéines mitochondriales sont d'origine cytosolique et 5% d'origine mitochondriale. Cette synthèse fait intervenir le génome mitochondrial, l'ARN polymérase, ribosomes, etc. et se fait de la même manière que la biosynthèse des protéines cytosoliques.

IV) Biogenèse

Les mitochondries se renouvellent environ tous les 15 jours. L'élimination des vieilles mitochondries se fait par autophagie et leur renouvellement se fait à partir de mitochondries pré-existantes après répllication du génome mitochondrial, augmentation de la taille par apport de matériel d'origine cytoplasmique puis division de la mitochondrie ou chondrodiérèse qui se fait par segmentation.

Mécanisme de la segmentation : la membrane interne de la mitochondrie envoie un septum ou cloison qui sépare la matrice mitochondriale en deux compartiments. Ensuite, la membrane externe s'étrangle entre les deux compartiments et produit deux mitochondries filles identiques.

B) PEROXYSOMES

I. Définition et généralités

Vésicules membranaires, sphériques ou ovalaires, délimités par une seule membrane et qui assurent la synthèse et la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi que la bêta-oxydation des acides gras à très longue chaîne ($n > 20$).

Ils ne font pas partie du système endomembranaire et présentent un aspect cristallin (catalase) caractéristique au microscope électronique.

II. Composition biochimique

Membranes : semblables à la MP avec des protéines entièrement synthétisées dans le cytosol et qui subissent l'adressage vers les peroxysomes. Leurs phospholipides sont synthétisés dans le REL puis arrachés par des protéines transporteuses.

Cavités : renferment plusieurs enzymes telles que :

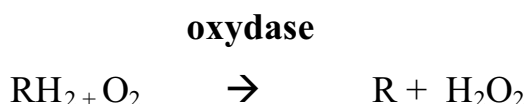
- les **oxydases peroxysomiales** (peroxydase et oxydases flaviniques) : produisent H_2O_2 en utilisant l' O_2 moléculaire
- la **catalase** : oxyde plusieurs substrats en utilisant l' H_2O_2 produit par les oxydases
- les **enzymes de la bêta-oxydation** des acides gras à très longue chaîne ($n > 20$).

III. Rôles physiologiques

Le peroxysome assure l'oxydation de nombreux métabolites produisant H_2O_2 puis la dégradation de H_2O_2 et enfin la dégradation des acides gras à longue chaîne ($n > 20$).

1) Oxydation de métabolites

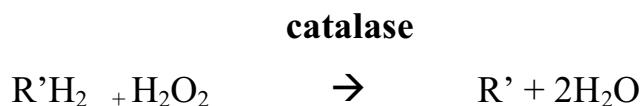
De nombreux métabolites (acides aminés, acides gras, acide urique) qui produisent H_2O_2 sont dégradés, par les oxydases flaviniques, dans ou près des peroxysomes selon la réaction :



H_2O_2 est un oxydant puissant qui libère des radicaux libres OH^\bullet très toxiques pour la cellule. Sa dégradation est donc nécessaire pour la détoxification de la cellule.

2) Dégradation

Plusieurs substrats sont oxydés dans le peroxyosome en utilisant H_2O_2 produit par les réactions de dégradation des métabolites précédentes, ces réactions sont catalysées par la catalase :



R' = ethanol, méthanol, etc.

Cette réaction est importante dans la cellule du foie, du rein et de l'intestin. Elle intervient dans certaines réactions de détoxification.

3) Dégradation des acides gras à longue chaîne ($n > 20$)

Dans les peroxyosomes, les acides gras à chaîne longue subissent la bêta-oxydation ou hélice de Lynen (cf. plus haut). Le produit final de dégradation qui est l'acétyl CoA se dirige vers les mitochondries.

Application médicale

- certains facteurs appelés agents proliférateurs des peroxyosomes (PPA) induisent une prolifération anormale des peroxyosomes, surtout au niveau du foie et qui peut atteindre jusqu'à 60 fois le volume cellulaire ; ex. : aspirine, hypolipémiants comme le clofibrate.
- des défauts d'adressage d'enzymes peroxysomiales entraînent des affections peroxysomiales (20 maladies) entraînant des atteintes neurologiques et multiviscérales (Refsum, Zellweger).

IV. Biogenèse

Le nouveau peroxyosome provient d'un peroxyosome préexistant par croissance puis division. Il augmente d'abord de taille, puis les lipides et protéines membranaires nécessaires à cette prolifération proviennent du cytoplasme. Enfin le peroxyosome bourgeonne deux peroxyosomes fils.

Chapitre 6 NOYAU INTERPHASIQUE ET CHROMOSOMES

Objectifs

- Définir le noyau interphasique
- Citer les constituants du noyau interphasique
- Décrire les caractéristiques du noyau
- Citer les colorations qui mettent en évidence le noyau
- Citer la composition biochimique des membranes de l'enveloppe nucléaire
- Définir les termes : espace périnucléaire, lamina nucléaire et complexe de pore
- Citer des substances échangées à travers les pores nucléaires
- Citer les différents rôles physiologiques de l'enveloppe nucléaire
- Décrire la biogenèse de l'enveloppe nucléaire
- Citer la composition biochimique du nucléoplasme
- Définir le nucléocytosquelette
- Définir le nucléole
- Décrire la structure et l'ultrastructure du nucléole
- Citer les différents constituants biochimiques du nucléole
- Expliquer le rôle de l'organisateur nucléolaire
- Expliquer le rôle physiologique du nucléole
- Citer la composition biochimique de la chromatine
- Définir les termes : euchromatine, hétérochromatine et chromatine sexuelle
- Définir le chromosome
- Citer les différents constituants biochimiques du chromosome
- Décrire la molécule d'ADN
- Définir et citer les protéines histones
- Définir les protéines non histones
- Décrire l'organisation du chromosome

- Définir les termes : nucléosome, fibre nucléosomique, nucléofilament et filament solénoïde
- Décrire la morphologie du chromosome métaphasique
- Définir les termes:centromère, kinétochore, télomère et constriction secondaire
- Définir le nombre de chromosome chez l'espèce humaine
- Expliquer l'utilité de la technique du caryotype dans l'étude du chromosome
- Citer les critères de classification des chromosomes du caryotype
- Citer les rôles du chromosome
- Définir le cycle cellulaire
- Décrire chacune des étapes du cycle cellulaire
- Expliquer le mécanisme de la réplication de l'ADN
- Définir les termes : mitose et indice mitotique
- Décrire chacune des étapes de la mitose
- Définir les termes : fuseau mitotique, fibre kinétochorienne et cytotéière
- Citer les facteurs qui régulent la mitose
- Expliquer l'effet des substances suivantes sur la mitose : chalcones, antagonistes des chalcones, phytohémagglutinine et Concanavaline A
- Définir l'apoptose
- Décrire le mécanisme de l'apoptose
- Expliquer l'intérêt de l'apoptose pour l'organisme vivant
- Définir la méiose
- Définir la division réductionnelle
- Décrire chacune des étapes de la division réductionnelle
- Définir les stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacénèse
- Définir la division équationnelle
- Décrire chacune des étapes de la division équationnelle
- Définir le brassage intra et inter chromosomique

- Définir l'expression des gènes
- Comparer l'expression des gènes chez eucaryotes et procaryotes
- Expliquer le mécanisme de maturation des ARN
- Expliquer les rôles des enzymes qui assurent à la maturation des ARN
- Définir la prévalence des anomalies chromosomiques
- Citer des exemples d'anomalies chromosomiques
- Définir les termes : autosome et hétérochromosome
- Définir les anomalies chromosomiques de nombre
- Définir les anomalies chromosomiques de structure
- Définir les termes : monosomie, trisomie, délétion, inversion et translocation
- Définir les termes : syndrome de Down, syndrome du cri du chat, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, syndrome du triplo X et syndrome du double Y
- Définir les maladies innées du métabolisme
- Expliquer les causes de la phénylcétonurie et de l'albinisme.

cf. film "La Structure de la cellule" à la médiathèque de la Faculté.

A. NOYAU INTERPHASIQUE

I. Définition et caractères généraux

Organite membranaire volumineux, présent dans les cellules eucaryotes et contient l'ensemble de l'information génétique (cf. polycopié schémas). Il peut être caractérisé par la taille, la forme, le nombre et la position dans la cellule.

Taille : proportionnelle à celle de la cellule. Son volume est apprécié par le rapport nucléo-cytoplasmique qui est élevé (>1) chez les cellules jeunes ou non différenciées.

Forme : variable

- généralement arrondi ou ovoïde dans la cellule cubique
- aplati dans la cellule pavimenteuse
- allongé dans la cellule musculaire et prismatique

- irrégulier dans le neutrophile

Nombre : le noyau peut être absent (hématie, kératinocyte, cellule du cristallin), unique (la plupart des cellules), double (hépatocyte) ou multiple (cellule musculaire, ostéoclaste).

Position : central dans le fibroblaste, basal dans la cellule muqueuse et situé dans le 1/3 inférieur de la cellule épithéliale intestinale.

Le noyau peut être mis en évidence par une **coloration ordinaire** ou par des **colorations spéciales**

La **coloration ordinaire** à l'hématéine-éosine : colore le noyau en bleu violacé Les **colorations spéciales** sont la coloration au bleu de toluidine, la coloration de Brachet et coloration de Feulgen.

La coloration au bleu de toluidine (avec Rnase) colore spécifiquement en bleu les mottes de chromatines. La coloration de Brachet utilise la pyronine qui colore l'ARN en rouge et le vert de méthyle qui colore l'ADN en vert. La coloration de Feulgen utilise le réactif de Schiff qui colore spécifiquement l'ADN en bleu violet.

II. Constituants du noyau

Le noyau interphasique est délimité par l'**enveloppe nucléaire (EN)** et contient la **chromatine** et un ou plusieurs **nucléoles** qui baignent dans le **nucléoplasme**.

1. Enveloppe nucléaire

C'est une double membrane (externe et interne) qui sépare le nucléoplasme du cytoplasme. Elle délimite l'espace périnucléaire et présente des pores nucléaires.

Membrane externe : se trouve du côté hyaloplasmique. Elle est trilaminaire, de 6 à 8 nm d'épaisseur, porte des ribosomes et est en continuité avec le REG par des ponts, elle fait partie du système endomembranaire.

Membrane interne : se trouve du côté du nucléoplasme. Elle est trilaminaire, de 6 à 8 nm d'épaisseur et tapissée par la lamina nucléaire du côté du nucléoplasme.

Lamina nucléaire : couche de protéines fibreuses, liée à la membrane nucléaire interne et à la chromatine. Elle est formée de trois types de lamines, A, B et C qui sont des filaments intermédiaires. La lamina nucléaire stabilise l'enveloppe nucléaire et permet la fixation de la chromatine.

Espace périnucléaire : situé entre les deux membranes de l'EN ; il est en continuité avec le REG par des ponts et contient des protéines et des ions.

Pore nucléaire ou complexe de pore : perforation de l'enveloppe nucléaire résultant de la fusion des deux membranes externes et internes, permettant des échanges nucléo-cytoplasmiques et dont le nombre augmente avec l'activité cellulaire. Le pore nucléaire est une structure complexe formée de huit granules protéiques appelés spokes et entourés de deux anneaux protéiques avec parfois un granule central relié aux spokes par un réseau fibrillaire.

Rôles de l'EN

Les pores effectuent des **échanges** entre le nucléoplasme et le cytoplasme. Ainsi, il y a sortie d'ARN et de préribosomes et entrée de nucléotides, ions, enzymes, histones, etc.

L'enveloppe nucléaire assure aussi la **synthèse de protéines** par les ribosomes de sa membrane externe, ainsi que l'**élongation** de quelques **acides gras**.

Biogenèse de l'EN

L'EN apparaît en interphase par fusion, autour de la lamina, de vésicules en provenance du RE ou de synthèses cytoplasmiques ; elle disparaît en mitose après dissociation de la lamina. La structure des complexes de pores reste conservée après dissociation de la lamina et ils seront réassociés à la nouvelle enveloppe nucléaire formée.

2. Nucléole

Définition : organe nucléaire sphérique ou ovoïde non limité par une membrane mais incomplètement cerné par la chromatine et où a lieu la production des ribosomes. Il disparaît en mitose.

Au microscope optique, le nucléole apparaît basophile, sphérique ou ovoïde.

Au microscope électronique, il comporte une zone centrale fibrillaire constituée d'ADNr et une partie granulaire périphérique constituée d'ARN. Les deux zones contiennent des protéines.

L'ADNr ou **organisateur nucléolaire** est sous forme de boucles situées sur les chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22. A la fin de la mitose, elles constituent 10 petits nucléoles qui fusionnent rapidement et forment un nucléole unique.

Rôle : le nucléole est l'**appareil producteur des ribosomes**, il synthétise des pré-ribosomes selon le mécanisme suivant :

- transcription de l'ADNr en ARNr 45S
- clivage de l'ARNr 45S en ARNr 28S, 18S et 5,8S
- arrivée de l'ARNr 5S à partir du chromosome n°1
- arrivée des protéines à partir du cytosol
- assemblage des protéines cytosoliques et des ARNr 28S, 18S, 5,8S et 5S en deux sous-unités pré-ribosomiques
- passage des pré-ribosomes dans le cytoplasme à travers les pores
- maturation des pré-ribosomes en ribosomes dans le cytoplasme.

3. Nucléoplasme

C'est un gel qui remplit le noyau et renfermant nucléoles, chromatine et nucléocytosquelette. Sa composition biochimique n'est pas très différente de celle du cytoplasme.

Le **nucléocytosquelette** est constitué d'un réseau de protéines fibreuses avec trois ou quatre protéines majeurs dont l'actine. C'est le lieu dans lequel se déroule toutes

les réactions du métabolisme nucléaire : réplication de l'ADN, transcription de l'ADN, etc.

4. Chromatine

Forme décondensée des chromosomes, présente en interphase seulement. On distingue deux types de chromatine, l'euchromatine ou chromatine diffuse, l'hétérochromatine ou chromatine condensée et la chromatine sexuelle ou corpuscule de Barr.

- **Euchromatine** : chromatine totalement décondensée, dispersée dans le cytoplasme et active sur le plan transcriptionnel. Elle représente 10% de la chromatine totale.

- **Hétérochromatine** : chromatine plus ou moins condensée, située autour du nucléole, contre la lamina nucléaire ou dispersée en mottes dans le nucléoplasme. Elle est inactive sur le plan transcriptionnel et constitue 90% de la chromatine totale.

- **Chromatine sexuelle ou corpuscule de Barr** : petite masse d'hétérochromatine située contre l'EN et résultant de l'inactivation, au hasard, de l'un des X chez la femme. L'expression des gènes d'un seul X est suffisant pour la vie normale de la cellule. Le corpuscule de Barr n'est pas rencontré chez l'homme normal.

La composition biochimique de la chromatine est identique à celle des chromosomes (cf. paragraphe suivant).

B. CHROMOSOMES

I. Définition

Filaments condensés en bâtonnets au cours de la mitose et dispersés en mottes de chromatine en interphase (cf. photocopié schémas).

II. Composition biochimique

Chaque chromosome est formé d'une molécule d'ADN liée à des **protéines**.

ADN : double chaîne de nucléotides, torsadée et antiparallèle. Elle est formée de bases puriques, A et G (double cycle) et de bases pyrimidiques, C et T

(monocycliques). Les deux chaînes d'ADN sont liées de façon complémentaires (A=T et C≡ G) par des liaisons hydrogènes.

Protéines : deux types, protéines histones et protéines non histones :

Protéines histones : protéines basiques à rôle structural ; elles sont de 5 types et forment 2 groupes :

1^{er} groupe : H₂A, H₂B, H₃ et H₄ qui sont organisées en 4 paires et forment un **nucléosome** qui est l'unité structurale de la chromatine constituée par de l'ADN et des protéines histones.

2^{ème} groupe : H₁, responsable de la condensation ou spiralisation du chromosome.

Protéines non histones : protéines acides de petite taille ; elles sont peu nombreuses et instables (peuvent se lier ou se séparer des gènes). Ce sont les protéines régulatrices de l'expression des gènes au niveau de la transcription.

III. Organisation moléculaire

Le chromosome est organisé en fibre nucléosomique ressemblant à un "collier de perles" constitué d'une molécule d'ADN enroulée autour de plusieurs nucléosomes. Selon son état de spiralisation, il existe plusieurs degrés de spiralisation du chromosome qui sont :

La **fibre héminucléosomique** => la **fibre nucléosomique** => le **nucléofilament** => la **fibre solénoïde** (cf. TD).

IV. Morphologie et nombre

- Morphologie

La morphologie des chromosomes est plus visible sur le chromosome métaphasique. Ce dernier présente deux **chromatides** reliés par un **centromère** au niveau duquel on rencontre des **kinétochores** et des **fibres kinétochoriennes**. Les extrémités du chromosome sont appelées **télomères** et certains chromosomes présentent des constriction secondaires.

Centromère : constriction primaire du chromosome où l'ADN est non dupliqué. Elle correspond à la zone d'association des deux chromatides du chromosome métaphasique, limitée des deux côtés par des kinétochores (complexes protéiques) liés aux fibres kinétochoriennes (microtubules).

Télomère : extrémité des chromatides d'un chromosome et qui est formée par la **répétition d'une séquence d'acide nucléique**. Les télomères sont toujours fixés à la lamina nucléaire.

Constriction II : située au niveau des chromosomes (13, 14, 15, 21 et 22) seulement et correspond à l'organisateur nucléolaire ou boucle d'ADNr.

- Nombre de chromosomes

Variable selon l'espèce (drosophile : 8, souris : 40 et rat : 42). Il y a 46 chromosomes chez l'humain dont 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes (chromosomes sexuels ou hétérochromosomes), XX chez la femme et XY chez l'homme.

La morphologie et le nombre de chromosomes sont constants et caractérisent une espèce donnée. Leur investigation peut se faire par analyse du caryotype (anté ou post natal). En post natal, l'analyse du caryotype (cf. chapitre 1) peut être réalisée sur toute cellule nucléée (lymphocyte). En anté-natal, elle est réalisée sur des cellules fœtales prélevées par amniocentèse ou ponction amniotique.

V. Rôles des chromosomes

Deux principaux rôles, transmission de l'information génétique et expression des gènes.

1. Transmission de l'information génétique

Se fait d'une cellule mère aux cellules filles par le biais de la **mitose** qui est une étape du **cycle cellulaire** ou d'une génération à l'autre par le biais de la **méiose**.

- Cycle cellulaire

C'est l'ensemble des deux étapes interphase et mitose. L'interphase est constituée de trois phases :

- **phase G₁** (Gap1) : phase qui suit la mitose et définit la durée du cycle cellulaire car les autres phases ont une durée constante. Elle dure quelques heures, quelques jours, voir des années (G₀). Pendant cette phase, il y a synthèse d'ARN et de protéines cytosoliques.
- **phase S** (Synthesis) : phase au cours de laquelle il y a **duplication de l'ADN** et du diplosome et **synthèse d'histones** avec réduction de la synthèse d'ARN et des protéines cytosoliques. Elle dure environ 7 heures.
- **phase G₂** (Gap2) : phase au cours de laquelle il y a synthèse d'ARN et de protéines cytosoliques, d'une durée de 3 heures environ.

La phase G₀ correspond à un arrêt du cycle cellulaire, avec une suspension des divisions cellulaires en phases G₁ et G₂. Des cellules peuvent rester en phase G₀ pendant une durée plus ou moins prolongée avant de réintégrer le cycle cellulaire sous l'action d'un stimulus. Certaines cellules sont restées définitivement en phase G₀, c'est le cas des cellules nerveuses, musculaires squelettiques et cardiaques.

- **Duplication de l'ADN**

Au cours du phénomène de duplication ou réplication de l'ADN, les deux brins d'ADN se séparent sous l'action d'enzymes comme la déroulase ou hélicase. Chacun des deux brins obtenus servira de matrice pour former une nouvelle molécule d'ADN par intervention de l'ADN polymérase. La réplication de l'ADN est bidirectionnelle, semi-conservatrice et a lieu au niveau de plusieurs points d'initiation appelés fourches ou yeux de la réplication (cf. TD).

Mitose

Mode de division cellulaire qui à partir d'une cellule à 2n résultent deux cellules filles à 2n.

L'indice mitotique (pourcentage de cellules en division) exprime le taux de divisions cellulaires dans un tissu donné. Il est de 1 dans les tissus embryonnaires et très inférieur à 1 dans les tissus où l'activité mitotique est faible.

La mitose se fait en 6 étapes arbitraires :

Prophase : la plus longue des étapes de la mitose (plusieurs heures pour l'hépatocyte, quelques minutes chez l'ovule fécondé). Elle se fait par hypertrophie du noyau, apparition des chromosomes bichromatidiens en très minces filaments, disparition de l'EN par fragmentation, raccourcissement des chromosomes qui deviennent épais et unis au niveau du centrosome, disparition du nucléole et interruption de la transcription.

- **Premétaphase** : formation du fuseau mitotique, fixation des chromosomes sur les microtubules du fuseau mitotique par les kinétochores et par les fibres kinétochoriennes.

Fuseau mitotique : réseau de microtubules polaires formés par polymérisation à partir des deux diplosomes apparus en phase S.

En premétaphase, chaque diplosome migre vers un pôle de la cellule et forme un aster. Les microtubules polymérisent entre les deux asters et forment un fuseau (cage) bipolaire ou fuseau mitotique ou achromatique ou de division.

Métaphase : disposition des chromosomes de part et d'autre de la plaque équatoriale où ils sont fixés par le centromère. La réplication du centromère a lieu par duplication tardive de son ADN.

Anaphase : clivage des chromosomes au niveau des centromères et migration des chromatides sœurs chacun vers un pôle de la cellule. Cette migration a lieu par **raccourcissement** (dépolymérisation) des fibres kinétochoriennes et **allongement** des fibres polaires (polymérisation), ceci éloigne les chromatides de la plaque équatoriale et les amène vers les asters de la cellule.

Télophase : disparition des fibres polaires et des fibres kinétochoriennes par dépolymérisation et reconstitution de l'EN autour de chaque pool de chromosomes. La reconstitution de la lamina est précédée par l'apparition de la lamina nucléaire, l'EN arrive sous forme de vésicules ou fragments qui fusionnent contre la lamina. Enfin de télophase, il y a décondensation des chromosomes et apparition de la chromatine et du nucléole avec reprise de la transcription.

Rq : ces 5 phases constituent la division nucléaire ou **caryodiérèse** qui précède la cytodièrese (phase 6).

Cytodiérèse : division du cytoplasme en deux cellules filles par répartition des différents organites du cytoplasme entre les deux cellules filles, formation d'un **sillon de division** ou anneau contractile formé d'actine et de myosine et étranglement de la cellule en deux cellules filles.

Dans certains cas, la cytodièrese n'a pas eu lieu, il en résulte des cellules à 4 n chromosomes (cellules à 92 chromosomes).

- Régulation la mitose

L'entrée de la cellule en mitose est sous contrôle de facteurs cytosoliques appelés MPF (**Miotosis Promoting Factor**). D'autres facteurs endogènes et exogènes peuvent stimuler ou inhiber la mitose.

Facteurs endogènes

Chalones : substances sécrétées par un tissu pour inhiber les divisions dans ce même tissu.

Antagonistes des chalones : substances sécrétées par un tissu et ayant un effet opposé à celui des chalones.

Facteurs exogènes

Inhibiteurs : la colchicine (anticancéreux) inhibe les divisions cellulaires en métaphase au bout de 2h de leur addition dans le milieu de culture. **Stimulateurs :**

la Phytohémagglutinine (PHA) et la Concanavaline A (ConA) stimulent la prolifération des lymphocytes in vitro.

- **Apoptose**

Il existe deux types de mort cellulaire, la **nécrose** qui est un phénomène passif, accidentel et résultant d'un traumatisme et l'**apoptose** ou mort cellulaire programmée.

L'apoptose est un phénomène actif qui nécessite l'activation de certains gènes comme le gène ced. Elle assure la régulation de l'équilibre entre les cellules qui meurent et celles qui apparaissent, ce qui prévient l'hypertrophie et permet l'élimination des tissus ou organes transitoires de l'embryon
ex.: mésonephros, palmures des doigts, etc.

Mécanisme de l'apoptose

- remaniements de la membrane plasmique avec osmose importante
- condensation du cytoplasme
- altération du noyau
- fragmentation du noyau puis de la cellule et formation de corps apoptotiques
- reconnaissance des corps apoptotiques par un macrophage et phagocytose.

Méiose

Division qui concerne la lignée germinale et permet la formation des gamètes par gamétogenèse (spermatogenèse et ovogenèse).

La méiose est l'ensemble de deux divisions successives :

une division réductionnelle : cyte I ($2n$) → cyte II (n)

une division équationnelle : cyte II (n) → tide (n)

Division réductionnelle : se fait en plusieurs étapes, prophase I, métaphase I, anaphase I et télophase I.

Prophase I : la plus longue, phase des crossing-over avec 5 stades :

stade leptotène (leptos : fin et tène : filament) : apparition des chromosomes bichromatidiens en filaments fins avec tétrades ou bivalents. Les chromosomes restent liés à la lamina par les télomères.

stade zygotène (zyg : couple) : appariement des chromosomes homologues.

stade pachytène (pachy : épais) : condensation des chromosomes qui deviennent courts et épais. C'est le stade des crossing-over avec échange de fragments entre chromosomes homologues ou brassage intra-chromosomique.

stade diplotène : séparation des chromosomes homologues qui restent unis par des chiasmas.

stade de diacénèse : disparition de l'EN, fixation des chromosomes au fuseau mitotique et disparition du nucléole.

Métaphase I : les chromosomes se positionnent sur la plaque équatoriale avec les centromères des chromosomes homologues chacun vers un pôle de la cellule.

Anaphase I : migration des chromosomes homologues chacun vers un pôle de la cellule grâce aux fibres kinétochoriennes. La répartition des chromosomes homologues entre les deux pôles se fait au hasard ; c'est le brassage inter-chromosomique.

Télophase I et cytotélerèse : désorganisation du fuseau mitotique, réapparition de l'EN, division du cytoplasme formant deux cellules filles à n chromosomes chacune.

Division équationnelle : elle est équivalente à la mitose et se fait en plusieurs phases, prophase II, métaphase II, anaphase II et télophase II.

Prophase II : très rapide ou presque absente et se caractérise par la formation du fuseau mitotique.

Métaphase II : disposition des chromosomes (n) sur la plaque équatoriale et clivage du centromère par réplication tardive de l'ADN à son niveau.

Anaphase II : séparation des centromères et migration des chromatides sœurs. La répartition des chromosomes se fait au hasard, c'est le second brassage inter-chromosomique.

Télophase II et cytotédièrese : désorganisation du fuseau mitotique, formation de l'EN, décondensation des chromosomes, division cytoplasmique produisant deux cellules filles à n chromosome chacune.

La méiose permet donc un brassage intra-chromosomique et deux brassages inter-chromosomiques, ce qui permet d'avoir un gamète unique et donc un être unique sur le plan génétique.

2. Expression des gènes

Le gène s'exprime lorsqu'il assure la synthèse de protéines ou de facteurs de transcription (ARNt, ARNr). Les gènes des procaryotes sont **continus**, ceux des eucaryotes sont **discontinus**. Dans ce dernier cas, les parties codantes sont appelées **exons** et les parties non codantes **introns**. Il existe trois types d'ARN polymérases (I, II et III) catalysant respectivement la synthèse des ARNr, ARNm et ARNt (cf. chapitre biosynthèse des protéines).

VI. Anomalies chromosomiques

Elles sont peu fréquentes (0,1% environ) et affectent les gonosomes et les autosomes. Elles peuvent être de nombre ou de structure et s'accompagnent généralement d'une arriération mentale et d'une modification du phénotype (fente labiale, dysmorphisme faciale, polydactylie, spina bifida, etc.).

Facteurs favorisant les anomalies génétiques

- Age de la mère
- Irradiation ionisante
- Facteurs iatrogènes
- Certains Virus

Exemples d'anomalies du caryotype

Monosomie : perte d'un chromosome ; ex :

Syndrome de Turner 45, XO : femme stérile, impubère et de petite taille, palmes au niveau du cou, etc.

Trisomie : chromosome surnuméraire sur une paire autosomique (13, 18, 21) ou gonosomique ; Ex :

Syndrome de Down ou **trisomie 21** : 47, XX, +21 ou 47, XY, +21. Idiotie, fertile, visage de mongolien, etc.

Syndrome de Klinefelter : 47, XXY ; homme stérile, de grande taille, absence de caractères sexuelles II.

Syndrome du Triplo X : 47, XXX ; femme de phénotype normal mais sujette à la schizophrénie avec l'âge.

Syndrome du Double Y : 47, XYY ; plus fréquent en milieux pénitenciers et médico-psychiatriques et a été par conséquent lié au comportement agressif.

Délétion : perte d'un fragment de chromosome ; ex :

Syndrome du cri du chat : 46, XX, delp₅ ou 46, XY, delp₅ ; dû à une délétion au niveau du chromosome n°5.

Translocation : échange d'un fragment entre deux chromosomes d'un caryotype ; il y a gain de ce fragment par un chromosome et perte par l'autre chromosome. La quantité totale d'ADN reste invariable.

Inversion : séquence du gène inversé entraînant l'absence ou modification de la protéine codée.

Maladies innées du métabolisme : manifestées par l'absence d'enzymes ; ex. :

- la **phénylalanine hydroxylase** dans la **phénylcétonurie**
- la **tyrosinase** dans l'**albinisme**.

Chapitre 7 BIOSYNTHESE DES PROTEINES

I) Généralités

Toutes les cellules synthétisent des protéines, au moins leurs protéines de structure (cytosquelette, protéines membranaires, protéines ribosomales, enzymes, etc.).

Certaines cellules sont spécialisées dans les sécrétions de protéines ;

ex : cellules exocrines du pancréas et zymogène, fibroblastes du tissu conjonctif et fibres, plasmocytes et anticorps.

II) Terminologie

ADN (Acide DésoxyriboNucléique) : support de l'information génétique, polymère de désoxyribonucléotides organisé en doubles brins torsadés et anti-parallèles. Les deux brins d'ADN sont complémentaires et liés par des liaisons hydrogènes.

Nucléotide : molécule formée d'une base azotée (purique ou pyrimidique), d'un ribose et d'un phosphate.

ARNm (ARN messenger) : acide ribonucléique formé d'une chaîne simple (monocaténaire) orientée qui est un polymère de ribonucléotides

ARNt (ARN de transfert) : chaîne monocaténaire orientée et formée de trois boucles et d'un bras (en forme de T). La boucle du milieu porte l'anticodon et l'extrémité 3' du bras porte le site de fixation de l'acide aminé.

Gène ou **unité de transcription** : séquence ou région sélectionnée de l'ADN qui est transcrite en ARNm. Il code pour une protéine ou pour l'un des ARN de structure (ARNt et ARNr).

Le gène est délimité par un site d'initiation de la synthèse d'ARN ou promoteur situé au début du gène et par un site de terminaison situé à la fin du gène.

Codon : séquence de trois nucléotides de l'ARNm qui codent pour un acide aminé donné.

Anticodon : séquence de trois nucléotides de l'ARNt, complémentaire d'un codon spécifique de l'ARNm.

- **Code génétique** : "langage" de 4 lettres qui définit la correspondance entre les codons de l'ARNm et les acides aminés de la protéine (cf. tableau polycopié schémas).

Ce code est universel (identique pour toutes les cellules) et dégénéré, il y a 64 codons pour 20 acides aminés, soit plusieurs codons pour un même acide aminé.

III) Déroulement de la biosynthèse des protéines

Elle se fait en deux étapes, l'étape de **transcription** qui a lieu dans le noyau et l'étape de **traduction** qui a lieu dans le cytoplasme.

- Transcription

Permet la synthèse de l'ARNm à partir du gène qui se trouve sur l'un des brins de l'ADN appelé brin modèle ou **brin matrice**. L'ARNm est complémentaire au brin modèle et sa synthèse nécessite des enzymes nucléaires, ARN **polymérases** I, II ou III qui catalysent respectivement la synthèse des ARNr, ARNm et ARNt.

La transcription a lieu en 3 étapes :

Etape d'initiation : l'ARN polymérase se lie au promoteur du gène et sépare les deux brins de l'ADN.

Etape de synthèse : le brin matrice de l'ADN (brin 3' => 5') sera recopié. Les nucléotides complémentaires arrivent au fur et à mesure que l'ARN polymérase II se déplace le long du gène dans le sens 5'=>3' et lie les nucléotides entre eux, ce qui forme le transcrit primaire ou primitif ou ARN premessager.

Etape de maturation : l'ARN premessager subit une maturation par protection de ses deux extrémités puis par **excision** et **épissage**.

Au cours du phénomène d'**excision**, des **enzymes d'excision** appelées **spliceosomes** se lient au transcrit I et sépare les transcrits des introns de ceux des exons.

Au cours du phénomène d'**épissage**, il y a recollement des transcrits des exons grâce à des enzymes appelées **ligases** ou enzymes d'épissage. Ce qui donne naissance à un ARNm mature qui passera dans le cytoplasme à travers les pores nucléaires.

- Traduction

Etape au cours de laquelle s'effectue la lecture de l'ARNm pour produire la protéine. Elle se fait en trois étapes :

Etape d'initiation : la petite sous-unité ribosomale se lie à l'ARNm au niveau de l'extrémité 5' sur le codon initiateur AUG. Le premier ARNt se place dans la loge P de la petite sous-unité ribosomale. L'anticodon de ce 1^{er} ARNt est UAC, complémentaire du codon initiateur AUG. Enfin, la grande sous-unité ribosomale s'unit à la petite, l'ensemble forme un complexe d'initiation.

Etape d'élongation : arrivée, un à un, des acides aminés en face de leurs codons sur l'ARNm. Chaque acide aminé est transporté par un ARNt correspondant. Le nouvel acide aminé et son ARNt se fixent dans la loge A de la petite sous-unité ribosomale et le peptide du site P est transféré sur le nouvel acide aminé grâce à la peptidyle-transférase qui catalyse une liaison peptidique en présence du GTP. Un autre acide aminé arrive et refait le même parcours, et ainsi de suite jusqu'à l'autre bout de la chaîne d'ARNm. Le ribosome se déplace sur l'ARNm par translocation codon par codon.

Etape de terminaison : le ribosome reconnaît un des codons stop (UAA, UGA ou UAG) puis il y a séparation du polypeptide formé, de l'ARNm de l'ARNt et des deux sous-unités ribosomiques entre eux.

NB :

- certains acides aminés peuvent avoir plusieurs ARNt correspondants
- le même ARNm peut-être traduit plusieurs fois en de multiples copies de la même protéine. Cette amplification de la traduction s'effectue par un ou plusieurs ribosomes (polysome)
- une protéine de 150 acides aminés est synthétisée en 15-20 secondes.

IV) Les antibiotiques

Ce sont des inhibiteurs de la biosynthèse des protéines chez les bactéries, ils peuvent agir sur l'étape de transcription ou sur celle de traduction ; ex. :

- Tetracycline : empêche la fixation de l'ARNt sur le ribosome
- Erythromycine : empêche l'association des deux sous-unités ribosomiques
- Chloramphénicol : empêche la formation des liaisons peptidiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- Aide mémoire de biologie cellulaire

Genèves Edit. Dunod.

2- Atlas de biologie cellulaire

Roland et S. Zollosi edit. Masson.

3- Biologie de la cellule

Fain Maurel. Edit. Breal.

4- Biologie cellulaire

Genèves. Editions Dunod.

5- Biologie cellulaire (PCEM-Pharmacie-DEUG)

Simon Marmor et Antoine Roux

Ed. Estem, Paris 1997

6- Biologie cellulaire

Y. Bassaglia. Edit. Maloine. Collection Sciences fondamentales. Paris 2001.

7- Biologie cellulaire et moléculaire

De Robertis. Editions Maloine.

8- Biologie moléculaire et médecine

J.C Kaplan et M. Delpech. Edit. Médecine-Sciences Flammarion. 1990

9- Cours de Biologie cellulaire (Les cours du PCEM)

Pierre Cau et Raymond Seite

Collection Ellipses, Paris, 1996

10- Cytobiologie (tomes 1 et 2)

Claude Theret, 1989. Collection Ellipses.

11- La cellule

David M. Prescott, 1989. edit. Médecine-Sciences- Flammarion

13- L'essentiel de la biologie cellulaire

Alberts Bray- Johnson Lewis Raff - Roberts Walter
Ed. Médecine –Sciences- Flammarion, Paris, 1999.

14- Lexique de Biologie

(Biologie cellulaire- Cytogénétique- Embryologie-Histologie)

T. Aboussaouira. ed. Dar Nachr Al Maarifa, Rabat, 1998

15- QCM de Biologie avec réponses commentées

Chraïbi-Hajji F. et Aboussaouira T.

ed. Gaëtan -Morin Maghreb, Casablanca, 1996

16- Vocabulaire d'Histologie

M. Guerbaoui et al. Casablanca, 1999.

17- Site Web de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca sur intranet : fmp-uh2c.ac.ma

**Cours de biologie cellulaire
QCM corrigés de Biologie Cellulaire**